

Université de Montréal

**Approche pour la synthèse diastéréosélective d'analogues α -
nucléosidiques et synthèse de nouveaux analogues de
nucléosides C2'-désoxy**

Par

Guillaume Michaud

Département de Chimie, Université de Montréal

Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M.Sc.)

en chimie

Août 2020

© Guillaume Michaud, 2020

Université de Montréal

Département de Chimie, Faculté des Arts et des Sciences

Ce mémoire intitulé

**Approche pour la synthèse diastéréosélective d'analogues α -
nucléosidiques et synthèse de nouveaux analogues de
nucléosides C2'-désoxy**

Présenté par

Guillaume Michaud

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

James D. Wuest

Président-rapporteur

Yvan Guindon

Directeur de recherche

Stephen Hanessian

Membre du jury

Résumé

Les nucléotides naturels sont les monomères constitutifs de l'ADN et de l'ARN, et sont nécessaires à la prolifération des cellules cancéreuses et des virus. L'utilisation d'analogues de nucléosides comme agents anti-cancéreux et/ou antiviraux a rapidement suscité un grand intérêt thérapeutique. Plusieurs analogues comportant un centre quaternaire carboné en position C3' ont été synthétisés par le laboratoire du Dr. Guindon et possèdent d'intéressantes activités biologiques.

Une nouvelle approche acyclique a été développée afin d'accéder efficacement et sélectivement à une multitude de nouveaux analogues de nucléosides ciblés. Cette stratégie se distingue par l'élaboration d'une nouvelle réaction d'aldolisation de Mukaiyama énantiosélective à partir d'un α -alkoxy aldéhyde protégé et d'un complexe chiral. L'addition stéréosélective de la nucléobase sur un précurseur dithioacétal, suivi d'une cyclisation intramoléculaire de type « *S_N2-like* », permet la synthèse directe des anomères α de la série (D)-1',2'-*trans* porteurs d'un atome de fluor en C2' et d'un centre quaternaire en C3'. La différenciation des deux alcools primaires rend possible la fonctionnalisation sélective sur la position C3' ou C5' en fin de synthèse pour potentiellement conférer une amélioration des propriétés biologiques sur de tels analogues.

L'application de cette stratégie a également permis de synthétiser facilement et efficacement une nouvelle famille d'analogues de nucléosides C2'-désoxy porteurs d'un centre quaternaire en C3'. La différenciation des deux alcools primaires en C3' et C5' facilite la séparation des produits de glycosylation suite à la déprotection sélective d'une de ces deux positions. Il a été déterminé que lorsque le précurseur de glycosylation contient une acétylglycine sur la position C3', un effet β -directeur est induit. Finalement, de nouveaux analogues C2'-désoxy ont été préparés et sont présentement testés contre une série de virus et d'enzymes polymérases.

Mots-clés : Nucléosides, Aldolisation de Mukaiyama, Centre quaternaire, Énantiosélectivité, Glycosylation, Analogues C2'-désoxy, Effet β -directeur, Virus.

Abstract

Natural nucleotides are the constituent monomers of DNA and RNA, and are necessary for the proliferation of cancer cells and viruses. The use of nucleoside analogues as anti-cancer and/or antiviral agents quickly aroused great therapeutic interest. Several analogues containing an all-carbon quaternary center in the C3' position have been synthesized by the Guindon laboratory and have interesting biological activities.

A new acyclic approach has been developed in order to gain efficient and selective access to a multitude of these novel targeted nucleoside analogues. This strategy is distinguished by the development of a new enantioselective Mukaiyama aldol reaction starting from a protected α -alkoxy aldehyde and a chiral complex. The stereoselective addition of the nucleobase on an acyclic dithioacetal precursor, followed by an intramolecular S_N2 -like cyclization, allows the direct synthesis of α -anomers in the (D) -1',2'-*trans* series bearing a fluorine atom at the C2' position and a quaternary center at C3'. The differentiation of the two primary alcohols throughout the synthetic routes is necessary to selectively functionalize the C3' or C5' position at the end of the synthesis to potentially confer enhanced biological properties on such analogues.

The application of this strategy has also made it possible to easily and efficiently synthesize a new family of C2'-deoxy analogues bearing a C3' quaternary center. The differentiation of the C3' and C5' primary alcohols facilitates the separation of the glycosylation products through the selective deprotection of one of these two positions. It has been determined that when the glycosylation precursor contains an acetylglycine at the C3' position, a β -directing effect is induced. Finally, new C2'-deoxy analogues have been prepared and are currently being tested against a series of viruses and polymerase enzymes.

Keywords : Nucleosides, Mukaiyama aldol, Quaternary center, Enantioselectivity, Glycosylation, C2'-deoxy analogues, β -directing effect, Viruses.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	ii
Table des matières.....	iii
Liste des figures.....	vi
Liste des schémas.....	vii
Liste des tableaux.....	ix
Liste des abréviations.....	x
Remerciements.....	xix
Chapitre 1 – Introduction.....	1
1.1 Introduction générale sur les nucléotides et nucléosides naturels.....	1
1.2 Importance biologique des analogues de nucléosides.....	3
1.3 Les virus : une cible de choix pour les analogues de nucléosides.....	6
1.3.1 Généralités sur les virus.....	6
1.3.2 L'exemple du virus de l'hépatite B (HBV).....	7
1.4 Objectif de recherche.....	9
Chapitre 2 – Modifications structurelles et méthodes développées pour la synthèse des analogues de nucléosides modifiés.....	11
2.1 Modifications structurelles des analogues de nucléosides.....	11
2.1.1 Analogues de nucléosides à base pyrimidine modifiée.....	11
2.1.2 Analogues de nucléosides à base purine modifiée.....	13
2.1.3 Analogues C-nucléosidiques.....	13

2.1.4	Analogues de nucléosides à structure furanoside modifiée.....	14
2.1.5	Analogues de nucléosides de type thio-, imino- et carbasucre	17
2.1.6	Analogues de nucléosides portant un centre quaternaire carboné	18
2.2	Méthodes de synthèse des analogues de nucléosides modifiés	21
2.2.1	Méthodes de synthèse par approche convergente	21
2.2.1.1	<i>N</i> -glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs 1',2'- <i>trans</i>	22
2.2.1.2	<i>N</i> -glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs 1',2'- <i>cis</i>	23
2.2.1.3	<i>N</i> -glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs C2'-désoxygénés.....	25
2.2.1.4	<i>N</i> -glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs C2'-monofluorés.....	27
2.2.1.5	<i>N</i> -glycosylation par voie acyclique.....	29
2.2.2	Méthodes de synthèse par approche divergente.....	32
2.2.2.1	Synthèse de nucléosides C2'-monofluorés par approche divergente.....	32
2.2.2.2	Le cas du Sofosbuvir.....	33
2.3	Perspectives de recherche.....	34
Chapitre 3 – Approche pour la synthèse diastéréosélective d’analogues de nucléosides portant un fluor en position C2'		
		36
3.1	Mise en contexte	36
3.2	Stratégies de synthèse développées par notre laboratoire pour l’accès aux analogues de nucléosides portant un fluor en C2' et un centre quaternaire carboné en C3'	37
3.3	Synthèse des analogues de nucléosides ciblés	40
3.3.1	Premières investigations	42
3.3.2	Synthèse de l’intermédiaire clé triprotégé 3.32	46
3.3.3	Nouvelle réaction d’aldolisation de Mukaiyama énantiosélective impliquant un α -alkoxy aldéhyde prochiral	48

3.3.4	Transfert radicalaire intramoléculaire photocatalysé et formation de l'intermédiaire clé triprotégé 3.32	53
3.3.5	Tentatives de synthèse du précurseur dithioacétal 3.45a	56
3.3.6	Optimisation de la nouvelle voie de synthèse	59
3.3.7	Complétion de la synthèse	61
3.4	Tentative d'amélioration de la nouvelle voie de synthèse	69
3.5	Comparaison globale des différentes voies de synthèse	74
3.6	Conclusion	76
Chapitre 4 – Synthèse d'analogues de nucléosides C2'-désoxy portant un centre quaternaire en position C3'		77
4.1	Mise en contexte	77
4.2	Synthèse des nouveaux analogues de nucléosides C2'-désoxy désirés.....	80
4.3	Contrôle stéréosélectif induit lors de la <i>N</i> -glycosylation	84
4.4	Conclusion	90
Conclusion générale		91
Références bibliographiques.....		92
Annexe 1 : Partie expérimentale et caractérisation		106

Liste des figures

Figure 1. – Appariement des bases nucléiques de l'ADN	2
Figure 2. – Nucléosides naturels présents dans l'ADN et l'ARN	3
Figure 3. – Mécanisme d'action des analogues de nucléosides (modifié à partir de réf. 10)	4
Figure 4. – Pronucléotides utilisés en tant qu'agents antiviraux.....	6
Figure 5. – Structure du virus HBV (modifié à partir des réf. 19 et 20)	7
Figure 6. – Cycle de réplication du virus HBV (modifié à partir de réf. 25)	8
Figure 7. – Analogues de nucléosides à base pyrimidine modifiée en position C5	12
Figure 8. – Analogues de nucléosides à base purine modifiée	13
Figure 9. – Analogues C-nucléosidiques.....	14
Figure 10. – Analogues 2'-désoxynucléosidiques.....	15
Figure 11. – Analogues de nucléosides modifiés en position C2'	16
Figure 12. – Analogues de nucléosides en série L.....	16
Figure 13. – Analogues thio-, imino- et carbasucres	18
Figure 14. – Conformations Nord et Sud adoptées par les nucléosides naturels.....	19
Figure 15. – Biais conformationnel des nucléosides	20
Figure 16. – Caractère "double face" des nucléosides.....	21

Liste des schémas

Schéma 1. – Synthèse diastéréosélective d'ANs 1',2'-cis ou -trans par voie acyclique.....	9
Schéma 2. – Élaboration et synthèse d'une nouvelle famille d'analogues de nucléosides ciblés	10
Schéma 3. – Synthèse de nucléosides 1',2'- <i>trans</i> induite par assistance anchimérique.....	22
Schéma 4. – Synthèse de nucléosides 1',2'- <i>cis</i> par un déplacement d'halogène.....	23
Schéma 5. – <i>N</i> -glycosylation dirigée par le TMSOTf développée par Hanessian	24
Schéma 6. – <i>N</i> -glycosylation en présence de Me ₂ BBr développée par notre laboratoire	25
Schéma 7. – Synthèse de nucléosides C2'-désoxy par voie cyclique.....	26
Schéma 8. – <i>N</i> -glycosylation par transfert interne de la nucléobase	26
Schéma 9. – <i>N</i> -glycosylation assistée par le groupement en C3'	27
Schéma 10. – Synthèse à grande échelle de la Clofarabine	28
Schéma 11. – Synthèse de nucléosides C2'-monofluorés 1',2'- <i>trans</i> selon une approche cyclique	29
Schéma 12. – Synthèse de la Zidovudine selon une approche acyclique.....	30
Schéma 13. – Synthèse et cyclisation d'un précurseur thioaminal	30
Schéma 14. – Approche acyclique développée par notre groupe permettant un couplage diastéréosélectif de la nucléobase.....	31
Schéma 15. – Synthèse de nucléosides C2'-monofluorés par une approche divergente	33
Schéma 16. – Synthèse du Sofosbuvir à grande échelle selon une approche divergente	34
Schéma 17. – Approche pour la synthèse diastéréosélective des analogues ciblés	37
Schéma 18. – Approche initiale utilisée pour la synthèse des ANs C2'-monofluorés	38
Schéma 19. – Seconde approche utilisant un transfert radicalaire intramoléculaire	40
Schéma 20. – Nouvelle approche visée pour l'obtention sélective des analogues ciblés.....	41
Schéma 21. – Rétrosynthèse de la nouvelle approche acyclique envisagée.....	42
Schéma 22. – Première voie investiguée pour la différenciation des alcools primaires.....	43
Schéma 23. – Fluoration diastéréosélective utilisant le catalyseur chiral de MacMillan.....	44

Schéma 24. – Synthèse de l'intermédiaire clé triprotégé 3.32	47
Schéma 25. – Migration du benzoate observé lors du traitement au TBAF.....	48
Schéma 26. – Aldéhydes envisagés comme matériel de départ	49
Schéma 27. – Énantiosélectivité induite lors de la réaction d'aldolisation de Mukaiyama	52
Schéma 28. – Transfert radicalaire photocatalysé et formation du centre quaternaire	54
Schéma 29. – Cycle photocatalytique proposé pour générer le produit 2,3- <i>syn</i> 3.41	55
Schéma 30. – Synthèse de l'intermédiaire 3.32 par la nouvelle voie de synthèse développée.	56
Schéma 31. – Voie alternative envisagée mettant en jeu un réarrangement de Pummerer	59
Schéma 32. – Incorporation diastéréosélective de la nucléobase	60
Schéma 33. – Furanose et pyranose formés suite à la cyclisation de 3.58a	65
Schéma 34. – Synthèse des analogues de nucléosides ciblés	69
Schéma 35. – Rétrosynthèse pour la nouvelle voie de synthèse améliorée	70
Schéma 36. – Protection au benzoate permettant l'accès à l'intermédiaire 3.68	71
Schéma 37. – Comparaison des approches permettant d'accéder à l'analogue 3.05	75
Schéma 38. – Synthèse d'ANs C2'-désoxy portant un centre quaternaire en C3'.....	77
Schéma 39. – Précédentes préparations d'ANs C2'-désoxy comportant un centre quaternaire en position C3'	78
Schéma 40. – Synthèse de furanose C2'-désoxy portant un centre quaternaire en C4'.....	79
Schéma 41. – Synthèse de furanose C2'-désoxy portant un gem-diméthyle en C3'.....	80
Schéma 42. – Première tentative de synthèse d'ANs C2'-désoxy	82
Schéma 43. – Synthèse des anomères mono-protégés 4.25a et 4.25b	83
Schéma 44. – Synthèse des analogues 4.01 et 4.02 désirés.....	84
Schéma 45. – Assistance anchimérique induite par l'acétylglycine en position C3'	85
Schéma 46. – Formation majoritaire de l'anomère β induite par l'acétylglycine	86
Schéma 47. – Légère stéréosélectivité observée en faveur de l'anomère α	88

Liste des tableaux

Tableau 1. –	Tentative de synthèse du dithioacétal 3.31	45
Tableau 2. –	Réaction d'aldolisation de Mukaiyama énantiosélective	51
Tableau 3. –	Tentative de synthèse du dithioacétal 3.50a	58
Tableau 4. –	Tentative de cyclisation directe en présence d'un acide de Lewis	63
Tableau 5. –	Conditions optimisées pour la déprotection des groupements silylés	64
Tableau 6. –	Conditions de cyclisation de 3.66	66
Tableau 7. –	Tentative de déprotection du benzoate secondaire	72
Tableau 8. –	Ratio anomérique et rendements isolés lors de la glycosylation de l'acétylcytosine silylée	89

Liste des abréviations

$[\alpha]_D^{25}$	Rotation spécifique basée sur la raie D du sodium (589 nm) à 25 °C
Å	Ångström
Ac	Acétyle
AcGly	Acétylglycine
ADN	Acide désoxyribonucléique
A.L.	Acide de Lewis
AN	Analogue de nucléoside
app	Apparent
aq.	Aqueux
Ara-C	Cytarabine
araGTP	Arabinosylguanine nucléotide triphosphate
ARN	Acide ribonucléique
ATP	Adénosine triphosphate
AZT	Zidovudine
5-aza-C	Azacytidine ou 5-Azacytidine
5-aza-dC	Décitabine ou 5-Aza-2'-désoxycytidine
5-aza-U	5-Azauridine
BEt₃	Triéthylborane
BF₃.OEt₂	Éthérate de trifluorure de bore
BH₃-THF	Complexe de borane tétrahydrofurane
BINOL	1,1'-Bi-2-naphtol
BiBr₃	Tribromure de bismuth
Bn	Benzyle
bpy	2,2'-bipyridine

Boc	<i>tert</i> -butoxycarbone
Bu	Butyle
Bz	Benzoate
°C	Degrés Celsius
calcd.	Calculé
cat.	Catalytique
Cbz	Carboxybenzyle
CbzCl	Chloroformiate de benzyle
CCM	Chromatographie sur couche mince
CDA	Cytidine déaminase
CDCl₃	Chloroforme deutéré
CHCl₃	Chloroforme
conc.	Concentration
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i>
COVID-19	Maladie à coronavirus 2019
Cyt	Cytosine
δ	Déplacement chimique
D	Molécule possédant la configuration D
d	Doublet
DCE	Dichloroéthane
dCK	Déoxycytidine kinase
DCM	Dichlorométhane
dd	Doublet de doublets
ddC	Zalcitabine
ddd	Doublet de doublet de doublets
ddl	Didanosine
DDQ	2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone
DEL (ou LED)	Diode électroluminescente
DFT	<i>Density Functional Theory</i>

DIBAL-H	Hydruure de diisobutylaluminium
DIPEA	N,N-Diisopropyléthylamine
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DNMT	ADN méthyltransférase
dNTP	Désoxyribonucléoside triphosphate
dt	Doublet de triplets
dtbbpy	4,4'-di-tert-butyl-2,2'-bipyridine
d4G	2',3'-didéhydro-2',3'-didésoxyguanosine
d4T	Stavudine
E	Énergie
EdU	5-éthynyl-2'-désoxyuridine
e.d.	Excès diastéréomérique
e.e.	Excès énantiomérique
eq.	Équivalents
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
Et	Éthyle
EtOH	Éthanol
Et₂O	Éther diéthylique
EUdR	5-éthyl-2'-désoxyuridine
É.T.	État de transition
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FdCyd	5-Fluoro-2'-désoxycytidine
Fmoc	Fluorénylméthoxycarbonyle
FUDR	Fluxoridine
g	Gramme
G	Énergie libre de Gibbs
GemMP	Gemcitabine monophosphate

h	Heure
HBV	Virus de l'hépatite B
HCl	Acide chlorhydrique
HCMV	Cytomégalovirus humain
hCNT	<i>human Concentrative Nucleoside Transporters</i>
HCV	Virus de l'hépatite C
hENT	<i>human Equilibrative Nucleoside Transporters</i>
HF-pyr.	Fluorure d'hydrogène et pyridine (~70 % HF, ~30 % pyridine)
HF-Et₃N	Fluorure d'hydrogène et triéthylamine (~70 % HF, ~30 % triéthylamine)
HMDS	Hexaméthylidisilazane
HPLC	Chromatographie en phase liquide à haute performance
HRMS	Spectrométrie de masse haute résolution
HSV	Virus de l'herpès simplex
Hz	Hertz
H₅IO₆	Acide périodique
IdU	Idoxuridine
ImH	Imidazole
IMPDH	Inosine 5'-monophosphate déshydrogénase
<i>i</i>-Pr	<i>iso</i> -Propyle
IR	Infrarouge
<i>J</i>	Constante de couplage
kcal	Kilocalories (1 kcal = 4.2 kJ)
K₂CO₃	Carbonate de potassium
L	Molécule possédant la configuration L
LC-MS	Chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse

LCB	Laboratoire de chimie bio-organique
LiAlH₄	Tétrahydraluminate de lithium
LiBH₄	Borohydrure de lithium
LiHMDS	Bis(triméthylsilyl)amidure de lithium
LNA	<i>Locked Nucleoside Analogue</i>
L-FTC	Emtricitabine
L-3TC	Lamivudine
2,6-lut.	2,6-Lutidine
m	Multiplet
M	Molaire
Me	Méthyle
MeCN	Acétonitrile
MeOD	Méthanol deutéré
MeOH	Méthanol
MeONa	Méthanolate de sodium
Me₂BBr	Bromodiméthylborane
MeLi	Méthyllithium
MEM	Éther 2-méthoxyéthoxyméthyle
MERS-CoV	Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient
mg	Milligramme
MHz	Mégahertz
min	Minute
mL	Millilitre
mmol	Millimole
mol	Mole
MS	Tamis moléculaire
Ms	Mésyle
MW	Masse Moléculaire

5-mC	5-méthylcytosine
NaBH₄	Tétrahydroborate de sodium
NaIO₄	Périodate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
NBO	<i>Natural Bond Orbital</i>
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NFSI	<i>N</i> -fluorobenzenesulfonimide
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimide
nm	Nanomètre
NMDK	Nucléotide diphosphate kinase
NMPK	Nucléotide monophosphate kinase
NOESY	<i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
Ns	Nosyle
NTP	Nucléotide triphosphate
Nu	Nucléophile
OsO₄	Tétroxyde d'osmium
O₃	Ozone
PEG	Polyéthylène glycol
Ph	Phényle
PMB	<i>para</i> -méthoxybenzyle
ppm	Parties par million
ppy	2-phénylpyridine
ProTide	PRO-drogue + nucléoTIDE
<i>p</i>-Ts	Acide <i>para</i> -toluène sulfonique
Pyr.	Pyridine
q	Quadruplet
R_f	Rapport frontal d'élution sur CCM
r.d.	Ratio de diastéréoisomères
RMN ¹H	Résonance magnétique nucléaire du proton

RMN ¹³C	Résonance magnétique nucléaire du carbone
RNR	RiboNucléotide Réductase
RSV	Virus du système respiratoire
s	Singulet
SAM	S-Adénosylméthionine
SET	Transfert monoélectronique
SnCl₄	Chlorure d'étain(IV)
S_N2	Substitution nucléophile bimoléculaire
SRAS-CoV	<i>Severe acute respiratory syndrome coronavirus</i>
t	Triplet
T	Température
t.a. (ou r.t.)	Température ambiante
T-AraC	Thiarabine
<i>t</i>-Bu	<i>tert</i> -butyle
TBAF	Fluorure de tétra-n-butylammonium
TBDPS	<i>tert</i> -butyldiphénysilyle
TBS ou TBDMS	<i>tert</i> -butyldiméthysilyle
TBSOTf	<i>tert</i> -butyldiméthysilyle trifluorométhane sulfonate
td	Triplet de doublets
TES	Triéthylsilyle
Tf	Triflyle
TFA	Acide 2,2,2-trifluoroacétique
TFT	Trifluridine
THF	Tétrahydrofurane
Thy	Thymine
TiCl₄	Tétrachlorure de titane
Ti(O<i>i</i>Pr)₄	Tétraisopropoxyde de titane
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
TMS	Triméthylsilyle

TMSOTf	Triflate de triméthylsilyle
Tr	Trityle
Trp	Tryptophane
Ts	Tosyle
UV	Ultraviolet
μL	Microlitre
μmol	Micromolaire
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
VZV	Virus varicelle-zona

À ma famille, mes amis

*« En sentiment comme en chimie,
rien ne se crée, rien ne se perd »*

Alfred Capus

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier le Professeur Yvan Guindon de m'avoir accueilli au sein de son groupe de recherche situé à l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal (IRCM). En plus de m'avoir encadré durant ces deux années de maîtrise, j'ai eu la chance de travailler sur des sujets passionnants qui m'ont permis de me développer en tant que chimiste et en tant que personne. Son expertise et ses nombreux conseils en ce qui a trait à la chimie médicinale m'ont permis d'améliorer mes compétences en recherche ainsi que de cultiver mon désir d'apprendre au fil de mes études. Je retiendrai surtout votre confiance, votre rigueur scientifique, vos anecdotes ainsi que les nombreuses discussions sur la chimie et autres sujets que l'on a pu avoir ensemble. J'ai énormément appris à vos côtés ainsi qu'au sein de votre laboratoire, et je vous en suis très reconnaissant. Votre bienveillance, votre compréhension et votre professionnalisme font de vous une personne en qui j'aurai toujours un grand respect et une grande admiration.

Je voudrais également remercier les chercheurs associés Dr. Michel Prévost et Dre. Starr Dostie pour avoir pu bénéficier de leur soutien ainsi que de leur disponibilité tout au long de ma maîtrise. Ils ont su répondre à mes nombreuses interrogations et leur aide m'a été précieuse dans l'avancement de mes projets de recherche. Je tiens aussi à les remercier chaleureusement pour leurs précieux conseils ainsi que pour le temps qu'ils auront consacré pour la rédaction de ce mémoire. Leurs qualités humaines en plus de leurs qualités scientifiques font également d'eux des personnes qu'il a été agréable de côtoyer pendant mon séjour au laboratoire.

J'aimerais aussi remercier les chercheurs post-doctoraux de notre laboratoire, soit les docteurs Renaud Zelli et Amarender Manchoju. Un grand merci pour vos conseils et votre disponibilité qui m'ont permis d'améliorer grandement mes compétences en recherche. Renaud, notre amitié et notre complicité tant au laboratoire qu'en dehors vont grandement me manquer. Je te souhaite la meilleure des réussites pour la suite de ta carrière mon ami.

De plus, j'aimerais remercier tous les membres passés et présents du laboratoire (Ryan Simard, Carla Eymard, Gang Wang, Elodie Hardine) et les nombreux stagiaires (Charles-Henri Buffet, Léa Thérout, Axelle Desriac) avec qui il a été possible de partager de très bons moments

durant ces deux années de maîtrise. Merci à tous ceux que j'ai pu côtoyer pendant mon séjour à l'IRCM.

Je remercie également Lucile Lafleur pour son aide et son implication dans les diverses démarches administratives dont j'ai pu bénéficier au cours de mes études. J'adresse aussi mes remerciements à tout le personnel administratif de l'IRCM pour leur disponibilité et pour leur efficacité. Également, un grand merci à Mme Aïda Mikhno pour son suivi, sa disponibilité ainsi que pour son aide dans les diverses démarches administratives universitaires que j'ai eu besoin d'effectuer durant mon cursus scolaire.

Je veux remercier mes amis et ma famille, sans qui ce parcours difficile qu'est une maîtrise en chimie n'aurait jamais été possible. Merci à vous tous pour votre aide et votre soutien. Un grand merci à mes parents Éric et Cécile ainsi qu'à mes frères Yohan et Thomas pour vos encouragements et votre soutien dans les moments les plus difficiles. Vous êtes les meilleurs et je n'en serai sûrement pas là où j'en suis sans vous ! Un grand merci aussi à ma belle-famille (Fatiha, Brahim, Hakim, Camelia) qui est également toujours là pour m'apporter de précieux conseils. Mes amis, Shuay, Jean, Juba entre autre, merci pour toutes ces bonnes journées et soirées qu'on a passé tous ensemble, les fous rires que l'on a pu avoir resteront à jamais graver dans ma mémoire.

Je voudrais réserver mes derniers remerciements, et non les moindres, à mon épouse et future mère Celia avec qui je partage les plus beaux moments de ma vie depuis trois années maintenant. Merci d'être toujours présente à mes côtés pour m'aider dans tout ce que j'entreprends, et pour me soutenir moralement dans les moments les plus difficiles. Un grand merci pour l'amour et le bonheur quotidien que tu me portes et qui me permet de vivre les journées les plus merveilleuses au monde. Tu es la meilleure et je n'en serai pas là où j'en suis aujourd'hui sans toi ! Un grand merci du fond du cœur pour tout à toi mon amour. Un grand merci également à Dieu pour ce cadeau du ciel que tu portes en toi, on a hâte de le voir naitre enfant et de prendre soin de lui.

Chapitre 1 – Introduction

1.1 Introduction générale sur les nucléotides et nucléosides naturels

Les nucléotides sont des molécules organiques composées d'une base nucléique (base azotée pyrimidine ou purine), d'un pentose (2'-désoxyribose ou ribose), ainsi qu'un groupement phosphate en position C5'. Lorsqu'ils sont dépourvus de phosphates, ils sont nommés nucléosides. Ce sont les principaux constituants de l'ADN (acide désoxyribonucléique), de l'ARN (acide ribonucléique) et de l'ATP (adénosine triphosphate) qui représentent les biomolécules naturelles les plus importantes de la vie. Ils sont également impliqués dans de nombreux processus biologiques tels que le métabolisme, la signalisation cellulaire et la régulation d'enzyme.¹ Au sein de la cellule, l'ADN, qui contient toute l'information génétique, est constitué d'un assemblage de monomères de désoxyribonucléotides reliés par des liaisons phosphodiesters au niveau des carbones C3' et C5'. L'appariement de leurs bases nucléiques forme une double hélice dont les deux brins antiparallèles sont stabilisés par des liaisons hydrogène. Dans l'ADN, la thymine s'apparie avec l'adénine et la cytosine avec la guanine (Figure 1). Dans le cas de l'ARN, le 2'-désoxyribose est remplacé par un ribose (hydroxyle présent en position C2') et la thymine est substituée par l'uracile. La plupart des ARNs naturels sont présents dans la cellule sous la forme d'un seul brin qui se replie sur lui-même afin de former une structure intramoléculaire stable et compacte. Comme dans l'ADN, cette stabilisation est due à l'appariement des bases nucléiques, l'uracile s'appariant à l'adénine et la cytosine à la guanine.

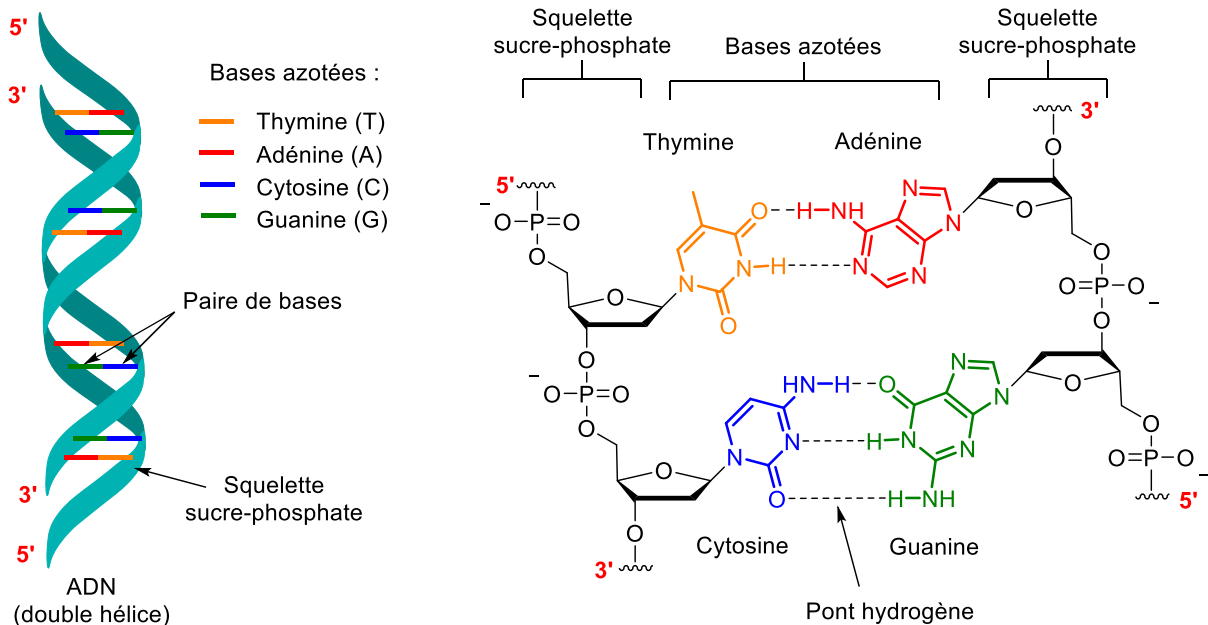


Figure 1. – Appariement des bases nucléiques de l'ADN

Les bases nucléiques sont attachées aux nucléosides naturels en position C1' via un lien C-N glycosidique de stéréochimie β (Figure 2). Les bases azotées de type purines (adénine et guanine) sont liées au pentose par l'azote N9 tandis que les bases azotées de type pyrimidines (cytosine, thymine, uracile) y sont liées par l'azote N1. Par souci de clarté, la base nucléique est dotée d'une numérotation « simple » et le pentose d'une numérotation « prime » dans la nomenclature des nucléosides. De plus, les nucléosides naturels peuvent être différenciés des non naturels par leur stéréochimie β -D où le substituant en position C5' est sur la même face du furanoside que la nucléobase en C1'. Toutefois, les nucléosides non naturels peuvent adopter une stéréochimie variable (série D ou L, anomère α ou β).² Lorsque la nucléobase en C1' et le carbone en C5' du pentose sont antipériplanaires, la stéréochimie de la position anomérique est α .

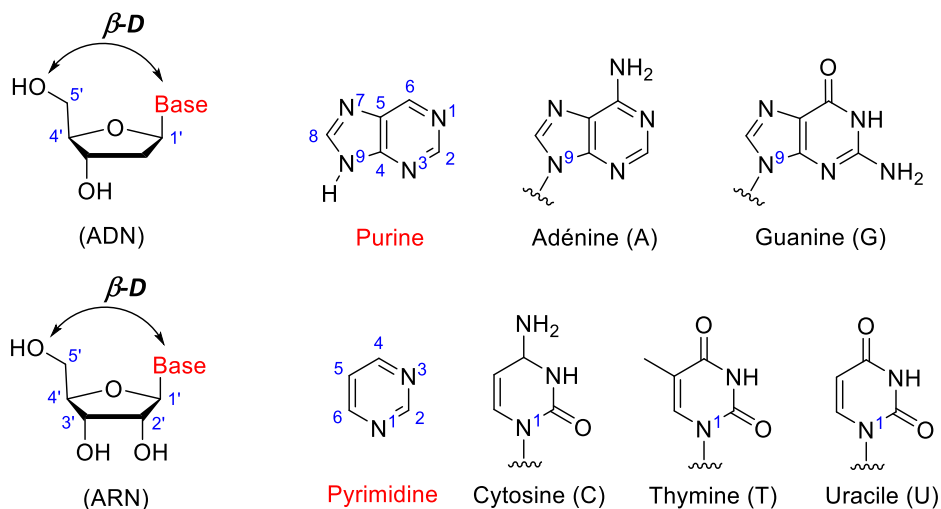


Figure 2. – Nucléosides naturels présents dans l'ADN et l'ARN

1.2 Importance biologique des analogues de nucléosides

L'ADN et l'ARN jouant un rôle vital dans de nombreux processus biologiques, les scientifiques les ont rapidement considérés comme étant des cibles de choix pour le développement de nouvelles drogues thérapeutiques. Suite à l'élucidation de la structure de l'ADN en 1953,³ de nombreux analogues de nucléosides (ANs) ont été conçus dans le but de traiter de nombreuses maladies graves telles que les cancers (pancréas, sein, foie) et les infections virales.⁴⁻⁶ Ainsi, plus d'une quarantaine d'ANs ont été approuvés par l'agence américaine *Food and Drug Administration* (FDA) depuis le début des années 60, dont près de la moitié sont encore de nos jours les principaux traitements antiviraux administrés aux patients infectés.⁷ Ces molécules interfèrent généralement lors de la division cellulaire par incorporation dans l'ADN ou l'ARN, conduisant ainsi à l'apoptose. Elles peuvent également avoir un effet inhibiteur sur certaines enzymes essentielles au bon fonctionnement de la réplication cellulaire telles que les polymérases humaines et virales, les kinases, la ribonucléotide réductase (RNR) et les méthyltransférases de l'ADN. Ainsi, les ANs rivalisent avec leurs homologues endogènes pour inhiber la synthèse des nucléotides, limitant ainsi la prolifération cellulaire.⁸

Afin d'agir comme antimétabolites, les ANs doivent d'abord pénétrer dans la cellule soit par diffusion, soit par transport actif ou passif à l'aide de protéines transmembranaires transporteurs de nucléosides (hENT et hCNT, Figure 3).^{9,10}

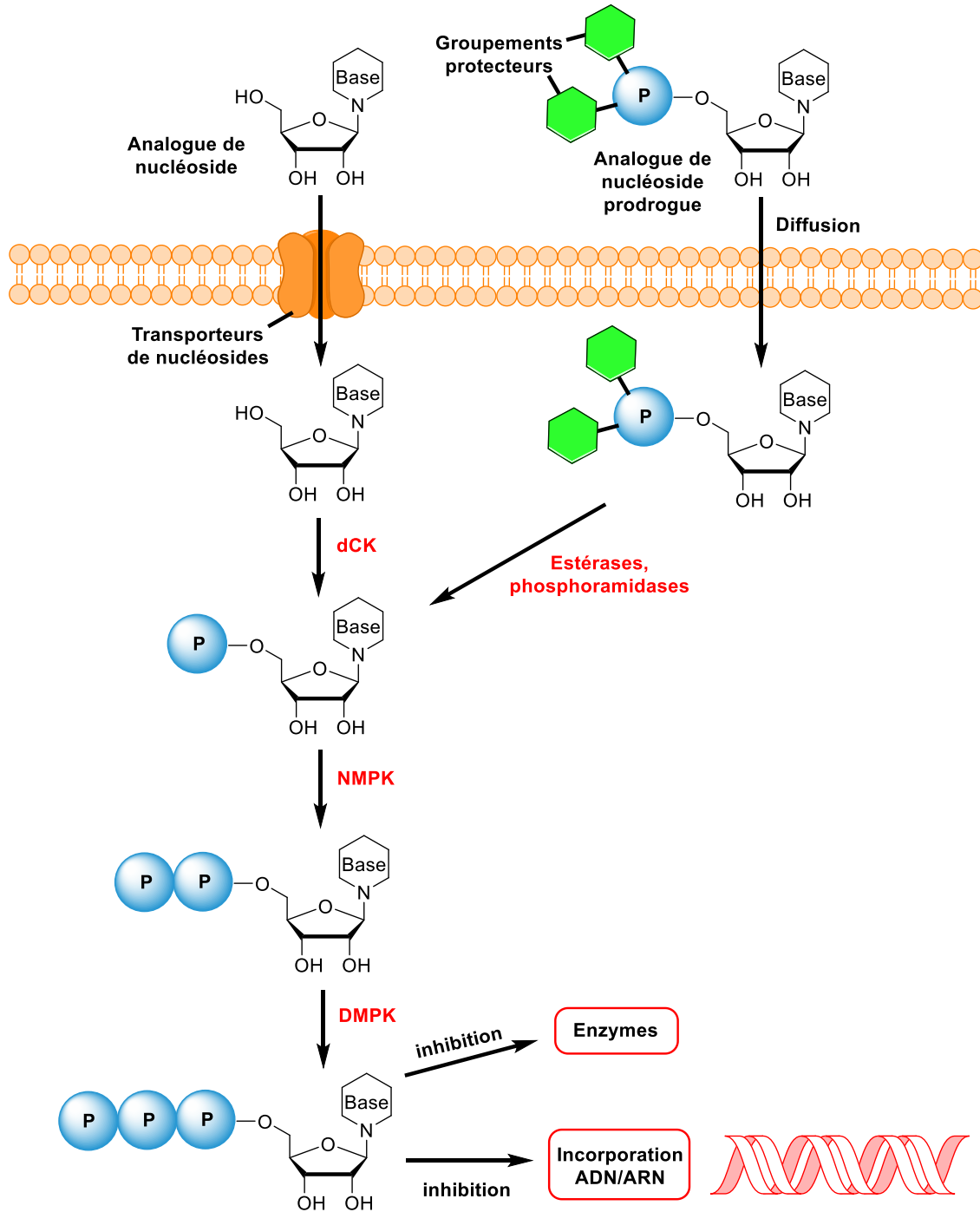


Figure 3. – Mécanisme d'action des analogues de nucléosides (modifié à partir de réf. 10)

La pénétration par transport actif est généralement favorisée à cause de la très haute polarité des ANs. Les transporteurs hCNT (*human Concentrative Nucleoside Transporters*) fournissent de l'ATP contre un gradient de concentration pour permettre le passage des ANs dans la cellule (transport actif).^{9,11} A l'inverse, les transporteurs hENT (*human Equilibrative Nucleoside Transporters*) permettent le transport des ANs à travers la membrane cellulaire en fonction d'un équilibre entre les gradients de concentration intra et extracellulaire. Une fois incorporée dans la cellule, les ANs doivent être phosphorylés et ainsi convertis en nucléosides triphosphates pour être actifs. La désoxycytidine kinase (dCK) responsable de la première phosphorylation permet de générer les ANs monophosphates, mais elle est souvent l'étape limitante du processus.^{9,12} Les deux phosphorylations suivantes médiées par les nucléosides mono- et di-phosphokinases (NMPK et DMPK) entraînent la formation des ANs di- et triphosphates, ces derniers étant les métabolites actifs responsables de la mort cellulaire.

En milieu biologique, l'étape limitante pour l'action efficace des analogues de nucléosides se situe au niveau de la phosphorylation initiale. Afin d'outrepasser cette première phosphorylation, la stratégie ProTide (PROdrogue + nucléoTIDE) peut être appliquée pour le développement de prodrogues tels que l'Acelarin[®] (Figure 4).^{1,13} Cette stratégie développée par Christopher McGuigan consiste à incorporer un phosphoramidate en position C5' afin de rejeter un nucléoside monophosphate ou monophosphonate dans le milieu intracellulaire après clivage enzymatique.^{8,13,14} De plus, l'utilisation des prodrogues accroît la lipophilicité des ANs, facilitant ainsi leurs pénétrations au sein de la cellule par diffusion passive. Cette stratégie a notamment permis de développer de nouveaux agents antiviraux tels que le Sofosbuvir, commercialisé Sovaldi[®], utilisé pour traiter le virus de l'hépatite C, et le Remdésivir (GS-5734) utilisé pour traiter plusieurs infections virales comme le virus Ebola, le virus Marburg, le virus Junin, ainsi que les coronavirus MERS-CoV et SARS-CoV.^{1,15} Au cours du mois d'avril 2020, Gilead a annoncé des résultats cliniques positifs lorsque le Remdésivir est utilisé pour traiter les patients atteints de la COVID-19, celui-ci réduisant de 15 à 11 jours le temps d'hospitalisation des malades.¹⁶

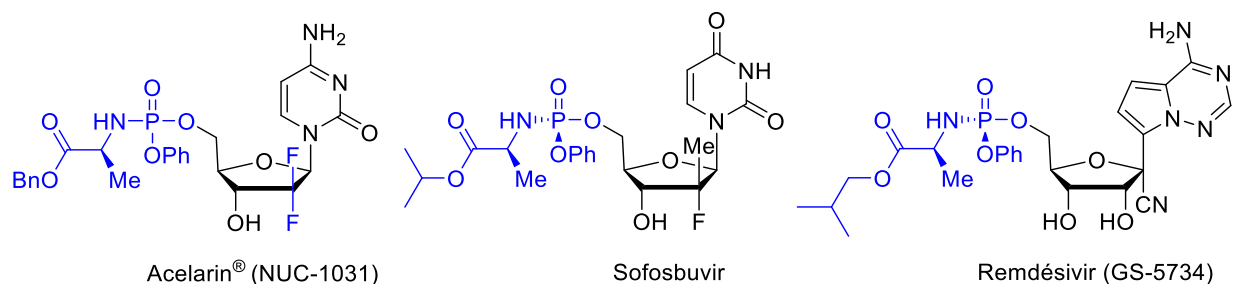


Figure 4. – Pronucléotides utilisés en tant qu'agents antiviraux

1.3 Les virus : une cible de choix pour les analogues de nucléosides

1.3.1 Généralités sur les virus

Les virus sont des agents infectieux qui nécessitent un hôte, souvent une cellule, dont ils utilisent la machinerie cellulaire afin de se répliquer. Ils contiennent un ADN ou un ARN viral porteur de l'information génétique protégé par une capsidie et par une enveloppe virale dans certains cas. Ils sont également capables de changer de forme au cours de leurs cycles de vie durant lesquels ils passent d'une forme extracellulaire (virions) à une forme intracellulaire. Lorsqu'ils possèdent une enveloppe externe virale, cette dernière comporte des glycoprotéines virales capables de reconnaître et de se fixer aux récepteurs membranaires situés sur la bicouche lipidique des cellules saines. Après fixation, l'enveloppe fusionne avec la membrane et permet au virus de pénétrer au sein de la cellule hôte. Globalement, le cycle de multiplication d'un virus peut être divisé en 4 étapes : l'attachement, la pénétration, la réplication et la libération du virus. Depuis la fin du vingtième siècle, la plupart des médicaments antiviraux administrés lors des traitements cliniques pour traiter les infections virales sont conçus à partir d'analogues de nucléosides. Ils sont notamment prescrits lors des traitements contre plusieurs virus tels que le VIH, les hépatites B et C, l'herpès simplex (HSV), le cytomégalovirus humain (HCMV) et les virus grippaux de l'influenza (A ou B).^{17,18}

1.3.2 L'exemple du virus de l'hépatite B (HBV)

Découvert en 1963,¹⁹ le HBV est un virus du genre *Orthohepadnavirus*, répertorié dans la famille des *Hepadnaviridae*. Sous forme de particule d'un diamètre d'environ 42 à 46 nm,²⁰ il renferme un ADN viral à double brin qui code pour 6 protéines virales (Figure 5).^{21,22} Les souches de HBV ont été classées en 8 génotypes, divisés en plus de 24 sous-types. L'origine du virus demeure toujours inconnue, mais plusieurs hypothèses scientifiques attestent que les chauves-souris pourraient en être les sources ancestrales.^{23,24} Le virus étant transmissible par le sang, les principales causes de transmission se font essentiellement par contact sexuel, partage d'aiguilles, transfusions sanguines ou transmissions maternelles. La période d'incubation des infections au HBV est de 90 jours,²⁵ et elles sont à l'origine de plusieurs complications cliniques telles qu'une hépatite, une anorexie, une gêne abdominale, des nausées, des vomissements, une arthralgie, une éruption cutanée ou un cancer du foie. Selon les derniers résultats publiés par l'organisation mondiale de la santé (OMS), le HBV cause près de 780 000 décès chaque année, et près de 270 millions de personnes ont été diagnostiquées positives au virus en 2016. En 2017, plus d'un million de nouveaux individus ont été infectés par le virus HBV.

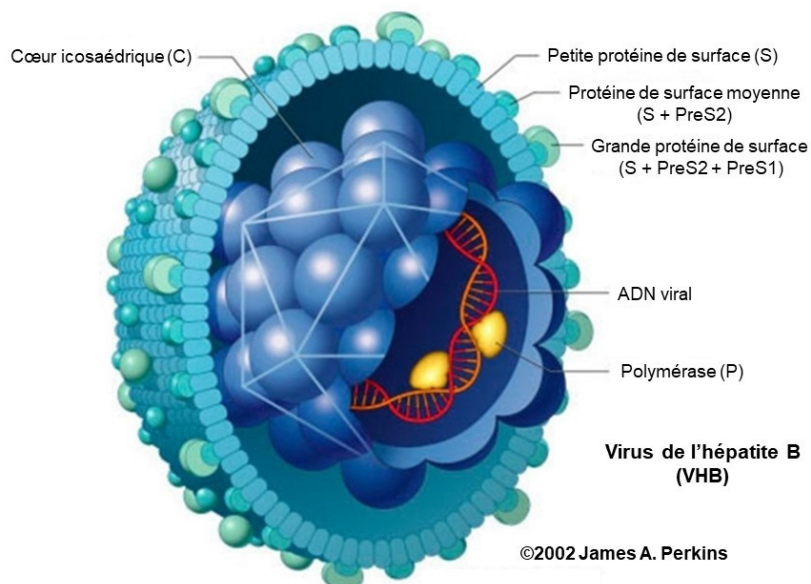


Figure 5. – Structure du virus HBV (modifié à partir des réf. 19 et 20)

Lors d'une infection, le virus pénètre à l'intérieur de l'organisme et cible les hépatocytes de l'hôte. Lorsque le virion reconnaît l'hépatocyte, il s'attache à sa surface via le récepteur NTCP, puis il fusionne son enveloppe virale avec la paroi cellulaire (Figure 6). Il libère ensuite la nucléocapside contenant l'ADN viral dans le cytoplasme de l'hépatocyte. Après translocation vers le noyau, l'ADN viral est relargué de la nucléocapside. Suite à une cascade de mécanismes biologiques, un ARN pré-génomique est transcrit par une ARN polymérase à partir de l'ADN viral. Cet ARN pré-génomique migre ensuite dans le cytoplasme par translation et sert de matrice pour la synthèse de l'antigène HBc et de la polymérase. Après encapsidation, le long brin d'ADN viral est synthétisé dans la capsidie par une enzyme, la transcriptase inverse, durant le processus de transcription inverse. En parallèle, divers ARN messagers (ARNm) viraux sont traduits en protéines virales. L'étape suivante correspond à la synthèse du second brin de l'ADN viral par appariement des nucléotides aux bases nucléiques complémentaires, formant ainsi un nouveau génome viral. Finalement, après encapsidation, les nouvelles particules virales infectieuses sont sécrétées à l'extérieur de l'hépatocyte et pourront ainsi se proliférer à leur tour à l'intérieur d'un autre hépatocyte sain.^{26,27}

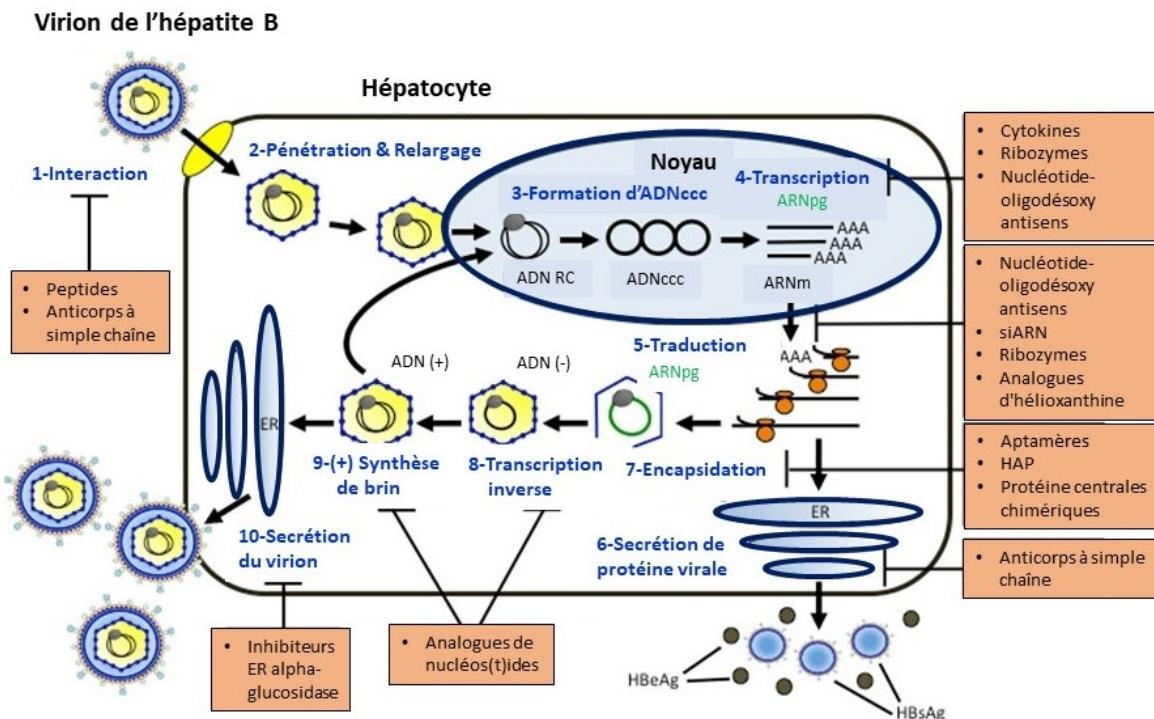


Figure 6. – Cycle de réplication du virus HBV (modifié à partir de réf. 25)

De nos jours, plusieurs analogues de nucléosides sont utilisés en tant que traitement antiviral contre le HBV tels que l'Entecavire, la Telbivudine et le Ténofovir.¹⁹ Généralement, ils cherchent à inhiber la transcriptase inverse,²⁸ mais dans certains cas, ils peuvent interférer durant le processus de la recombinaison du double brin d'ADN lors de l'étape suivante. Ainsi, ils peuvent compétitionner avec leurs homologues endogènes dans un mécanisme d'action inhibitoire.

1.4 Objectif de recherche

Les analogues de nucléosides possèdent d'importantes propriétés biologiques les rendant efficaces pour le traitement des cancers et des infections virales. Cependant, leurs préparations représentent toujours un défi de taille, surtout lorsque le sucre comporte plusieurs modifications structurales. Ainsi, notre laboratoire a développé une chimiothèque d'analogues de nucléosides comportant un centre quaternaire en C3' et un ou deux atomes de fluor en C2' selon une approche acyclique.^{29,30} Une méthodologie d'addition stéréosélective de la nucléobase sur un précurseur acyclique dithioacétal, élaborée par l'associée de recherche Starr Dostie, permet d'accéder à une série d'analogues (D)-1',2'-*trans* furanosides en présence d'un agent activateur, et à une série d'analogues (D)-1',2'-*cis* thiofuranosides en présence d'une base (Schéma 1).³⁰

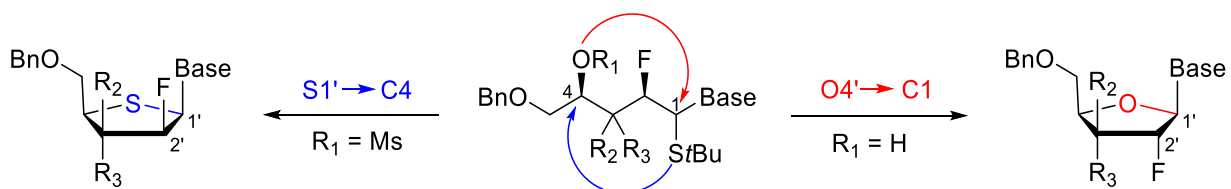


Schéma 1. – Synthèse diastéréosélective d'ANs 1',2'-*cis* ou -*trans* par voie acyclique³⁰

Ce mémoire présente une application de cette méthodologie d'addition stéréosélective de la nucléobase pour la synthèse diastéréosélective d'analogues α -nucléosidiques 1',2'-*trans* (*ribo*) comportant un centre quaternaire carboné en C3' et un atome de fluor en C2'. Au cours de mon projet de maîtrise, nous nous sommes aussi intéressés à l'élaboration d'une approche

synthétique améliorée permettant de synthétiser de nouveaux ANs C2'-désoxy portant un centre quaternaire carboné en position C3' (Schéma 2).

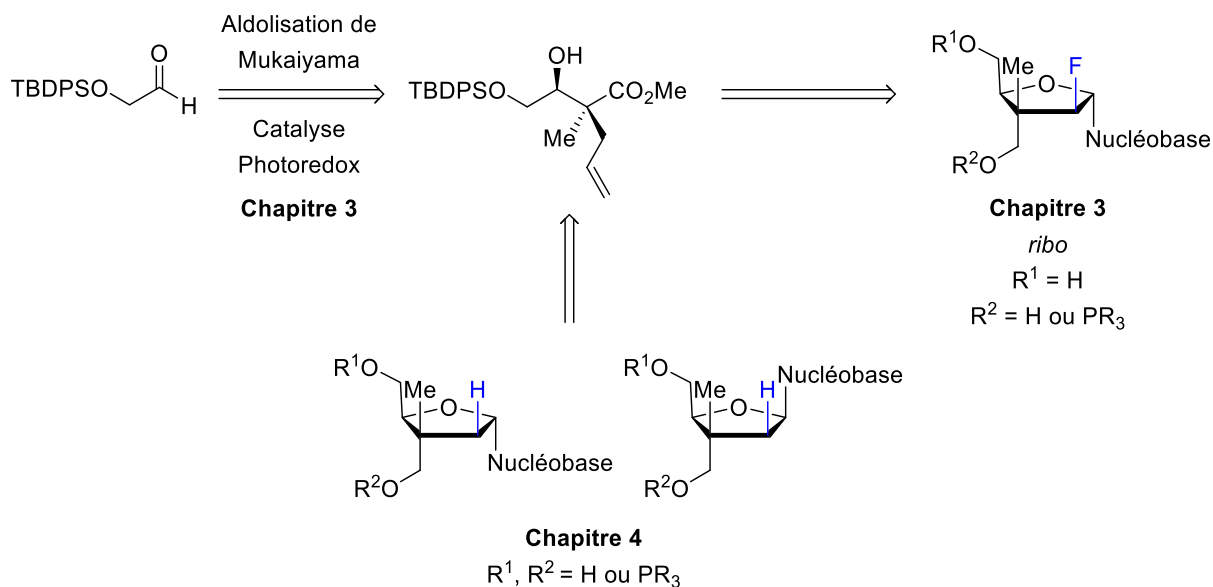


Schéma 2. – Élaboration et synthèse d'une nouvelle famille d'analogues de nucléosides ciblés

L'élaboration et la versatilité de cette approche améliorée appliquée à la synthèse des ANs anomérique α portant un atome de fluor en C2' et un centre quaternaire carboné en C3' est présentée dans le chapitre 3. Elle permet de réduire considérablement le nombre d'étapes intermédiaires nécessaires pour accéder aux ANs désirés et de différencier sélectivement les deux alcools primaires présents sur les analogues en incorporant des groupements protecteurs orthogonaux. Cette différenciation offre la possibilité de fonctionnaliser sélectivement l'anomère α sur la position C3' en fin de synthèse pour lui conférer de meilleures propriétés biologiques.

Le chapitre 4 présente quant à lui la synthèse de nouveaux analogues de nucléosides possédant un sucre 2'-désoxyribose et un centre quaternaire carboné en C3' rendus possible grâce à l'approche améliorée précédente. Les premières investigations autour des conditions de glycosylation stéréosélective favorisant la formation des anomères α et β complètent ainsi les observations découvertes au cours de ce projet.

Chapitre 2 – Modifications structurelles et méthodes développées pour la synthèse des analogues de nucléosides modifiés

2.1 Modifications structurelles des analogues de nucléosides

Les analogues de nucléosides sont conçus dans le but d'inhiber la prolifération des cellules cancéreuses ou des virus.^{1,31-34} Afin de posséder des propriétés biologiques efficaces, ils doivent comporter diverses modifications structurelles visant à améliorer leurs stabilités et leurs biodisponibilités en milieu biologique. Ainsi, de multiples stratégies visant à modifier la structure des nucléosides ont été développées. Elles peuvent être classées en trois catégories axées sur la modification de la base nucléique (ex : protection de l'amine, incorporation d'atome d'halogène ou d'azote, méthylation), sur le cycle du sucre (arabinoside, thiofuranoside, incorporation de substituants) et sur la présence de groupements latéraux (phosphate ou phosphonate).¹

2.1.1 Analogues de nucléosides à base pyrimidine modifiée

Les principales modifications apportées sur les bases pyrimidines correspondent à la fonctionnalisation de la position C5 de la nucléobase (Figure 7). La présence de l'iode sur la base azotée de l'Idoxuridine (IdU)³⁵ lui confère des propriétés antivirales intéressantes contre le virus de l'herpès simplex (HSV). Cet analogue dérivé de la désoxyuridine est suffisamment similaire à son homologue endogène pour être incorporé dans la séquence lors de la réplication de l'ADN viral, mais l'ajout de l'iode sur l'uracile à la position C5 bloque l'appariement des bases nucléiques et empêche ainsi la réplication. Cependant, son utilisation est limitée à cause de sa faible sélectivité et des effets secondaires dont il est responsable. La Trifluridine (TFT)³⁶ est un exemple d'analogue modifié possédant un groupement trifluorométhyle sur la base azotée qui lui confère des propriétés antivirales contre le virus HSV. Elle est également souvent administrée dans le

traitement de l'herpès oculaire. La Brivudine (BVDU) agit quant à elle comme terminateur de chaîne pour inhiber l'ADN polymérase virale responsable de la prolifération de certains virus à ADN tels que le HBV, le HSV (type 1 et 2), le HCMV et le VZV (Varicella-Zoster).¹⁷

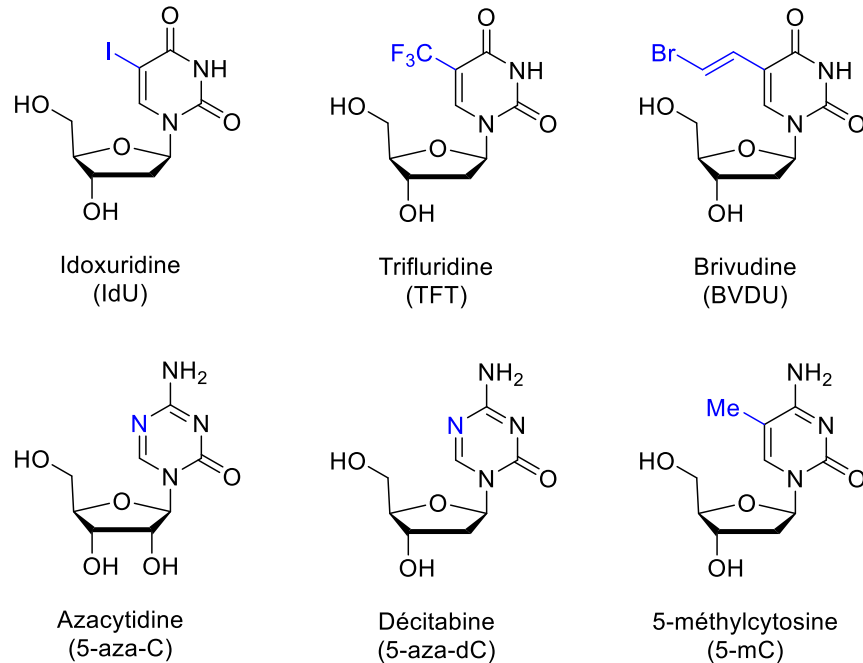


Figure 7. – Analogues de nucléosides à base pyrimidine modifiée en position C5

En substituant le carbone en C5 de la base azotée de la cytidine et de la 2'-désoxycytidine par un azote, de nouveaux analogues ont été élaborés et sont aujourd'hui utilisés pour traiter la leucémie. Il s'agit de l'Azacytidine (5-aza-C, Vidaza®) et la Décitabine (5-aza-dC, Dacogen®), approuvés respectivement par la FDA en 2004 et 2006 (Figure 7).^{1,37} L'incorporation de l'azote sur la position 5 de la base permet d'inhiber l'ADN méthyltransférase (DNMT) responsable de la méthylation lors de la réplication de l'ADN, conduisant ainsi à l'apoptose cellulaire.³⁸⁻⁴⁰ En effet, l'ADN peut subir une méthylation au niveau des bases pyrimidines des nucléosides au sein de la cellule. Cette modification épigénétique permet de réguler l'expression du génome et de préserver son intégrité. L'hyperméthylation de certains promoteurs de gènes produit des analogues à base C5-méthylcytosine (5-mC) régulant la division cellulaire. Cependant, une

hyperméthylation anormale de l'ADN peut entraîner une inactivation de suppresseurs clés et a pour conséquence l'augmentation de la prolifération des cellules cancéreuses.³⁹

2.1.2 Analogues de nucléosides à base purine modifiée

Comme pour les pyrimidines, les principales modifications retrouvées sur les analogues de nucléosides à base purine sont des fonctionnalisations de la position C2 via l'incorporation d'atome d'halogène (Figure 8). La Cladribine et la Fludarabine comportent tous deux une base modifiée de type 2-halogénopurine. Ces deux analogues sont des anticancéreux fréquemment utilisés pour traiter la leucémie lymphoïde chronique.⁴¹⁻⁴⁶ Une fois phosphorylés dans la cellule, ils agissent en tant qu'inhibiteur de la ribonucléotide-réductase et de l'ADN polymérase, bloquant ainsi la synthèse de l'ADN. La Pentostatine possède quant à elle une base de type hétérocyclique non aromatique à sept chaînons différente des analogues purines précédents. Des essais cliniques ont démontré une efficacité pour le traitement de la leucémie à tricholeucocytes.⁴⁷ De même, la Nélarabine est largement utilisée en chimiothérapie contre certaines leucémies rares affectant les lymphocytes T.⁴⁸ Cette dernière est convertie *in vivo* en arabinosylguanine nucléotide triphosphate (araGTP) qui inhibe la synthèse de l'ADN.

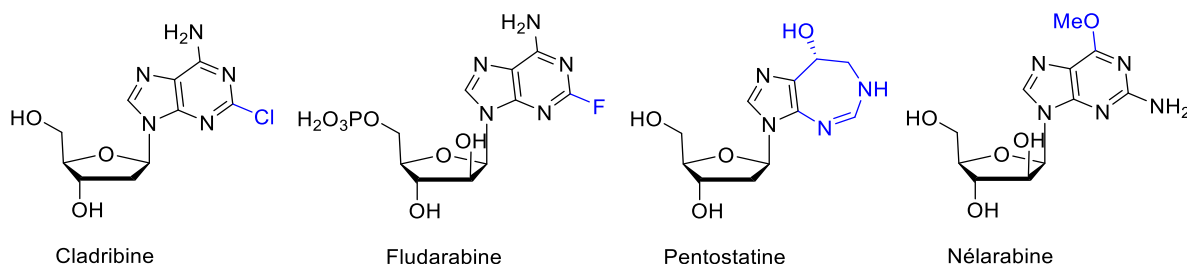


Figure 8. – Analogues de nucléosides à base purine modifiée

2.1.3 Analogues C-nucléosidiques

L'un des facteurs limitants dans le développement d'analogues de nucléosides réside dans la stabilité de la liaison glycosidique qui peut être clivée par diverses hydrolases glycosidiques. Pour contourner cette possible dégradation, certains chercheurs ont tenté d'éliminer l'azote N1 ou N9 dans la base nucléique afin de connecter cette dernière au cycle du sucre par un lien C-C

et non C-N. La Pseudouridine est une molécule naturelle trouvée dans l'ARN de transfert et l'ARN ribosomal qui malgré sa faible activité biologique significative a permis d'identifier et d'élaborer d'autres analogues C-nucléosidiques.^{49,50} Elle possède une base pyrimidine dont l'atome d'azote théoriquement en position 1 est déplacé en position 5 (Figure 9).⁴⁹⁻⁵³ La Showdomycine est un analogue naturel mimique de l'uridine isolé en 1964 par Nishimura *et al.*⁵⁴ Elle s'est révélée être un antibiotique efficace contre plusieurs bactéries mais sa forte toxicité a empêché son développement au stade clinique. D'autres analogues C-nucléosidiques appelés Formycines possèdent une base C-purine inhibant la purine nucléoside phosphorylase et les nucléosidases. Ces composés ont notamment révélé d'intéressantes propriétés antibiotiques et cytotoxiques.⁵⁵ On peut également citer l'exemple du Remdésivir déjà présenté dans la Figure 4 du chapitre 1.

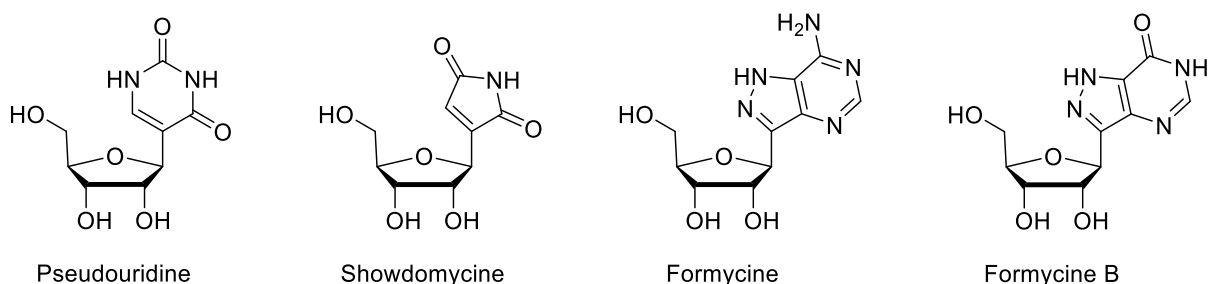


Figure 9. – Analogues C-nucléosidiques

2.1.4 Analogues de nucléosides à structure furanoside modifiée

Outre les modifications apportées sur la base azotée, plusieurs groupes de recherche se sont orientés vers la modification de la structure du furanoside en introduisant ou en éliminant des substituants sur les positions C2' et C3'. Le plus célèbre n'est autre que la Zidovudine (AZT) qui possède un azoture en position C3' en plus d'être désoxygéné en C2' (Figure 10). Ces modifications lui confèrent un pouvoir inhibiteur de la transcriptase inverse utile pour le traitement clinique contre le virus du VIH.⁵⁶ La découverte de l'AZT a engendré la synthèse de plusieurs analogues 2',3'-didésoxynucléosidiques tels que la Stavudine (d4T). Cet analogue contient une double liaison non hydroxylée entre les positions C2' et C3'. Ce dernier inhibe lui aussi la transcriptase inverse et est prescrit en thérapie pour traiter le VIH.⁵⁷ La Zalcitabine (ddC)

et la Didanosine (ddI) sont également deux exemples d'antirétroviraux aux mêmes caractéristiques que les analogues précédents, leur différence se situant seulement au niveau des positions C2' et C3' libres (absence de double liaison).

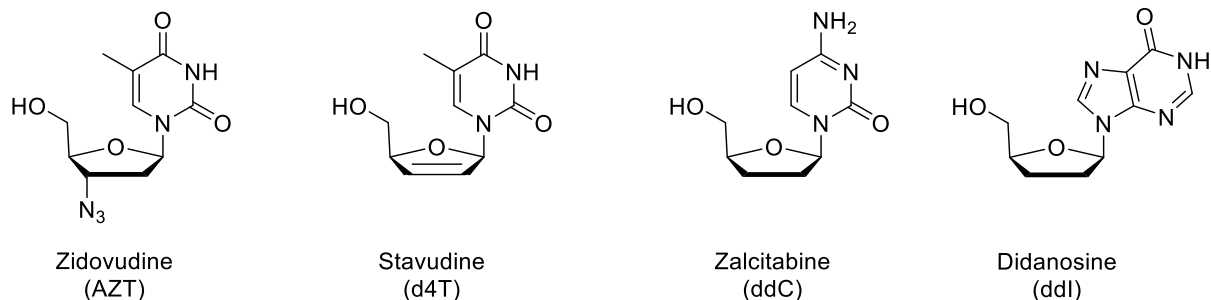


Figure 10. – Analogues 2'-désoxynucléosidiques

De nombreux analogues de nucléosides qui ont été acceptés pour le traitement de la leucémie présentent des modifications en position C2', conférant ainsi une stéréochimie 1', 2'-*cis* entre la base nucléique attachée au centre anomérique (en position C1') et un groupe attracteur d'électrons attaché en position C2' (Figure 11).^{11,58-60} Dans le cas de la Cytarabine (Ara-C), l'inversion de l'hydroxyle en position C2' lui confère des propriétés d'inhibition accrue lui permettant, après phosphorylation, de rivaliser avec son homologue endogène (le dCTP) pour l'incorporation dans l'ADN. L'analogue étant inadéquat pour l'extension, il interrompt l'élongation de la chaîne une fois qu'il y ait incorporé.⁶¹ Une autre modification importante concerne l'incorporation d'un ou deux atome(s) de fluor en position C2' (*e.g.* Clofarabine, Clevudine, Gemcitabine, Figure 14). Son électronégativité étant proche de l'oxygène, le fluor permet d'accélérer l'étape de phosphorylation tout en offrant une meilleure stabilité du lien glycosidique en milieu acide.⁶² La Gemcitabine, qui possède deux atomes de fluor en position C2', est l'un des agents chimiothérapeutiques les plus utilisés pour le traitement de tumeurs solides.^{63,64} La Clofarabine est quant à elle prescrite dans le traitement de la leucémie chronique.⁵⁸ Elle agit en tant que terminateur de chaîne d'ADN lorsqu'elle est sous sa forme triphosphate.

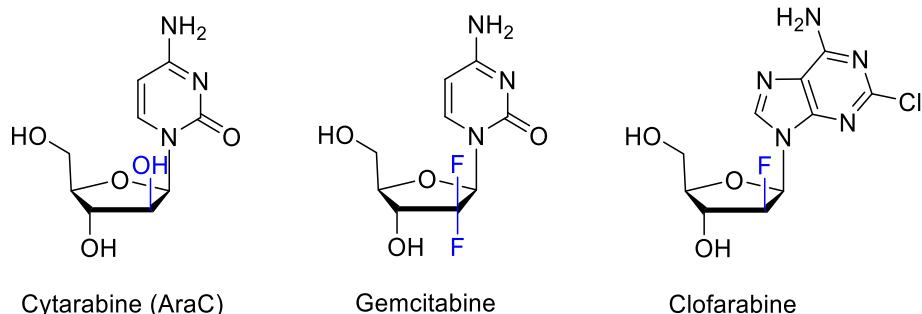


Figure 11. – Analogues de nucléosides modifiés en position C2'

Plusieurs autres analogues ont été synthétisés dont certains en série L (Figure 12) tels que le Lamivudine (L-3TC) et l'Emtricitabine (L-FTC). Ces deux analogues agissent efficacement en tant qu'inhibiteur de la transcriptase inverse lors de la réplication du VIH.⁶⁵ La présence de l'atome de soufre sur la position C3' permet d'augmenter l'affinité du ligand avec le site catalytique de l'enzyme, en mimant via son doublet non liant la liaison hydrogène réalisée par le groupement hydroxyle normalement présent sur les nucléosides naturels.⁶⁶⁻⁶⁷ Par la suite, plusieurs autres ANs de série L ont été conçus et ont démontré une meilleure activité antivirale avec une forte diminution de cytotoxicité par rapport à leurs énantiomères de la série D.⁶⁸ La Clevudine fait partie de la famille des L-nucléosides et possède un atome de fluor en position C2'. Tout comme ses homologues L-3TC et L-FTC, elle est utilisée en tant que médicament antiviral^{69,70} contre le HBV. La Telbivudine est un analogue de la thymidine qui agit en tant que terminateur de chaîne en inhibant l'ADN polymérase du HBV, ce qui conduit à l'apoptose.⁷¹

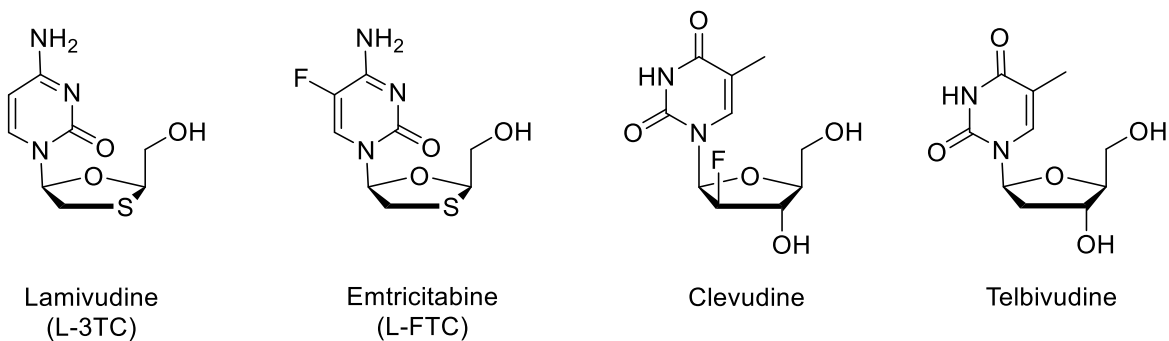


Figure 12. – Analogues de nucléosides en série L

2.1.5 Analogues de nucléosides de type thio-, imino- et carbasucre

L'atome d'oxygène présent dans le furanose peut dans certains cas être substitué par un autre hétéroatome pour donner lieu à des nouvelles familles de nucléosides. Un atome de soufre peut notamment remplacer l'atome oxygène et former un thionucléoside. Plusieurs thionucléosides tels que la Thiarabine (T-araC, Figure 13) possèdent une activité anticancéreuse considérable et une meilleure biodisponibilité.⁷²⁻⁷⁴ Elle comporte également une activité anti-angiogénique permettant de prévenir la formation de nouveaux vaisseaux sanguins durant l'angiogénèse nécessaires à la croissance de nombreuses tumeurs solides.⁷⁵ L'accès à la famille des iminosucres (ou azanucléosides) se traduit par le remplacement de l'atome d'oxygène du sucre par un atome d'azote. De nombreux iminosucres naturels sont notamment retrouvés dans la composition de plusieurs plantes médicinales et seraient responsables de leurs bienfaits biologiques. Les deux immucilines nommées Forodésine et Galidésivir^{51,76,77} possèdent des propriétés anticancéreuses qui agissent en inhibant la purine nucléoside phosphorylase.⁷⁶⁻⁷⁸ Cette inhibition se réalise grâce à la présence de l'azote dans l'hétérocycle qui augmente l'affinité d'interaction du sucre au site de liaison de l'enzyme.^{79,80} Enfin, un groupement méthylène peut aussi remplacer l'atome d'oxygène du cycle et ainsi former un analogue de nucléoside carbocyclique appelé carbasucre. L'absence d'une véritable liaison glycosidique entre la nucléobase et le sucre confère à l'analogue une résistance accrue contre les phosphorylases et contre les mécanismes de dégradations chimiques ou enzymatiques. L'essor de ces analogues a eu lieu suite à la découverte du Carbovir, un puissant inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH. Plusieurs autres analogues carbasucres ont par la suite été synthétisés et ont éprouvé d'intéressantes propriétés antivirales dont l'Abacavir qui est un autre inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH, et l'Entécavir qui agit en tant qu'inhibiteur de l'ADN polymérase virale du virus HBV.¹⁷

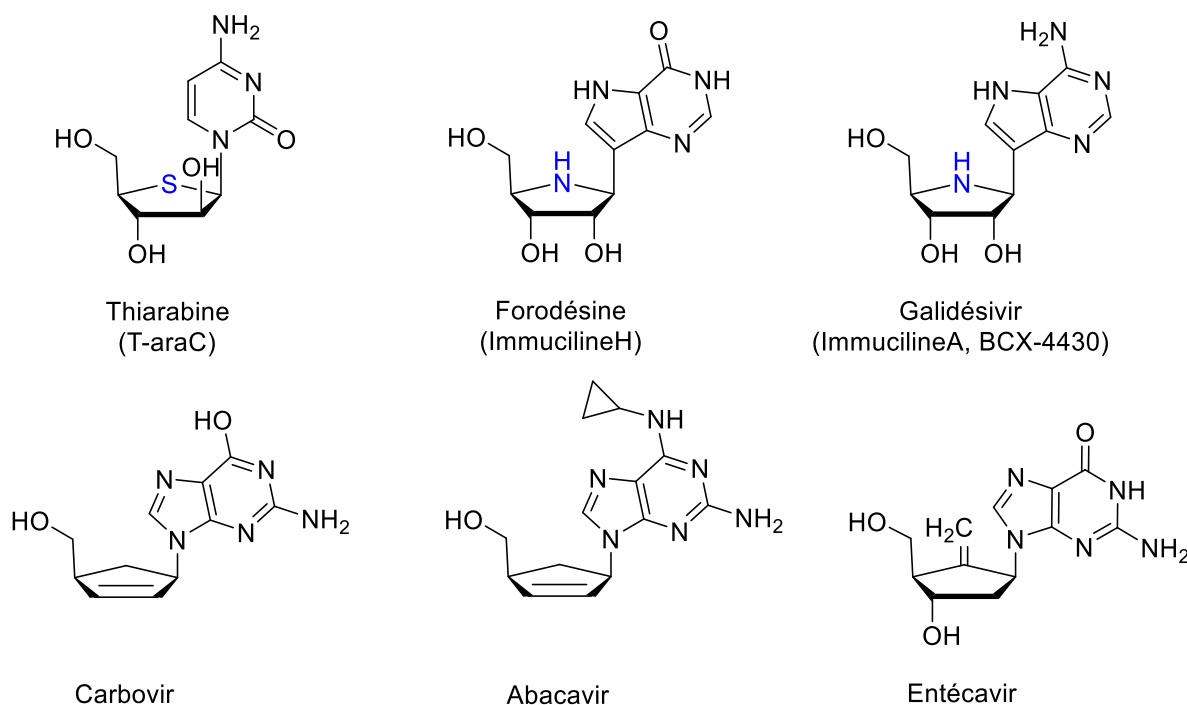


Figure 13. – Analogues thio-, imino- et carbasucre

2.1.6 Analogues de nucléosides portant un centre quaternaire carboné

Le principal avantage du centre quaternaire carboné introduit en position C3' réside dans la possibilité d'offrir une spécificité pour l'enzyme ciblée en empêchant toute liaison aux autres enzymes ou récepteurs sensibles à l'encombrement stérique à cette position. Il pourrait notamment permettre de protéger l'analogue d'une possible dégradation causée par la ribonucléotide réductase (RNR). Cette dernière catalyse la réduction des ribonucléotides de l'ARN en désoxyribonucléotides, sous-unités nécessaires à la synthèse de l'ADN. Elle est initiée par la formation d'un radical en C3' résultant du clivage homolytique d'un lien C-H. La présence d'un centre quaternaire à cette position permettrait de bloquer cette dégradation et donc de contourner la résistance associée à la RNR.⁸¹ De plus, le centre quaternaire induit un encombrement stérique qui augmente la rigidité de l'analogue. Cette rigidité pourrait fortement limiter les différentes conformations accessibles au nucléoside, engendrant ainsi une meilleure reconnaissance cellulaire pour nos molécules.⁸² En milieu biologique, le nucléoside se trouve dans un équilibre dynamique en adoptant majoritairement une conformation *Nord* lorsqu'il est

incorporé dans l'ARN, et une conformation *Sud* dans l'ADN (Figure 14).⁸³ La barrière énergétique à franchir pour passer d'une conformation à l'autre se situe autour de 2 kcal/mol. Afin de mieux comprendre le rôle joué par le blocage conformationnel imposé à l'analogue en milieu biologique, plusieurs systèmes bicycliques testés ont démontré une sélectivité de certaines enzymes pour la conformation *Nord*, tandis que pour d'autres enzymes, il semblerait y avoir une préférence pour la conformation *Sud*.⁸⁴ Ces observations ont conduits à la conception de plusieurs nucléosides de conformation bloquée, communément appelés LNA (*Locked Nucleoside Analogue*), dont le *N-MCT*, un analogue bloqué dans une conformation *Nord* ayant démontré une activité antivirale contre le virus de l'herpès.⁸⁵

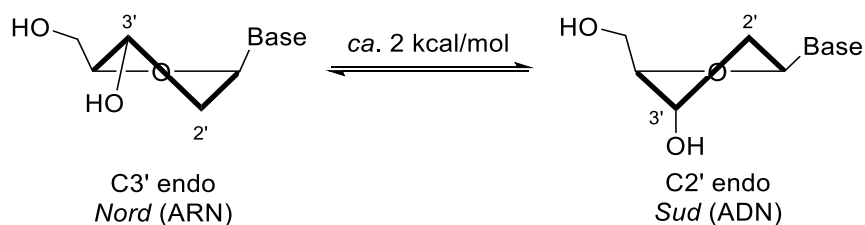


Figure 14. – Conformations Nord et Sud adoptées par les nucléosides naturels⁸³

Dans le cas des analogues de nucléosides synthétisés au sein de notre groupe, le centre quaternaire carboné ajouté induit une certaine flexibilité entre les analogues de nucléosides naturels et les nucléosides de conformation bloquée (LNA, Figure 15). Ainsi, cette flexibilité intermédiaire confère à nos analogues une plus grande variabilité conformationnelle, leur permettant de s'adapter à des systèmes biologiques requérant des changements de conformation.⁸⁶ Suite à l'analyse par diffraction des rayons X de quelques nucléosides de notre laboratoire, il a été relevé que les analogues adoptent préférentiellement une conformation *Sud* à l'état solide. Cependant, en solution, il est probable qu'un équilibre entre les deux conformations soit observé, bien que la conformation *Nord* devrait être défavorisée à cause de la gêne stérique occasionnée entre le méthyle en C3' et la nucléobase.

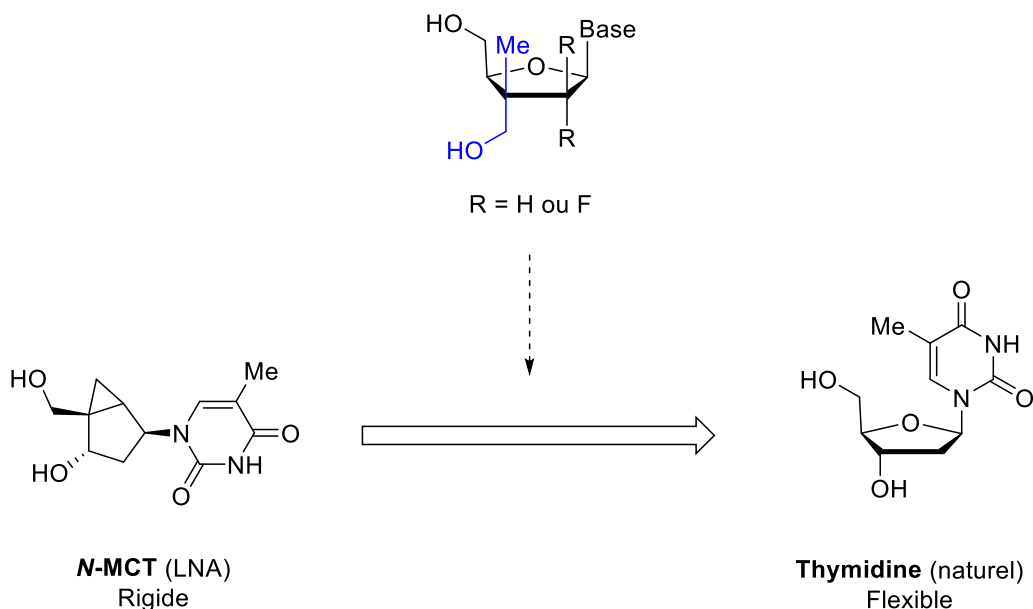


Figure 15. – Biais conformationnel des nucléosides

De plus, la majorité des nucléosides qui sont reconnus par la cellule sont les anomères β possédants une relation *cis* entre la nucléobase et le groupement $-\text{CH}_2\text{OH}$ situé en C4' (Figure 16, **2.1**). Or, la présence du groupement $-\text{CH}_2\text{OH}$ situé sur le centre quaternaire en position C3' de nos analogues offre un intérêt considérable pour l'anomère α **2.2** dans divers systèmes de reconnaissance cellulaire.²⁹ Il se démarque par la relation *cis* entre la nucléobase et le groupement $-\text{CH}_2\text{OH}$ en C3' qui, suite à une rotation, devient un carba-nucléoside de relation β -*cis* **2.2**. Cette relation spécifique pourrait permettre à l'anomère α **2.2** d'être reconnu puis phosphorylé dans la cellule et ainsi mener à une activité biologique. Cette caractéristique particulière a conduit à l'appellation de nucléoside à double face.²⁹

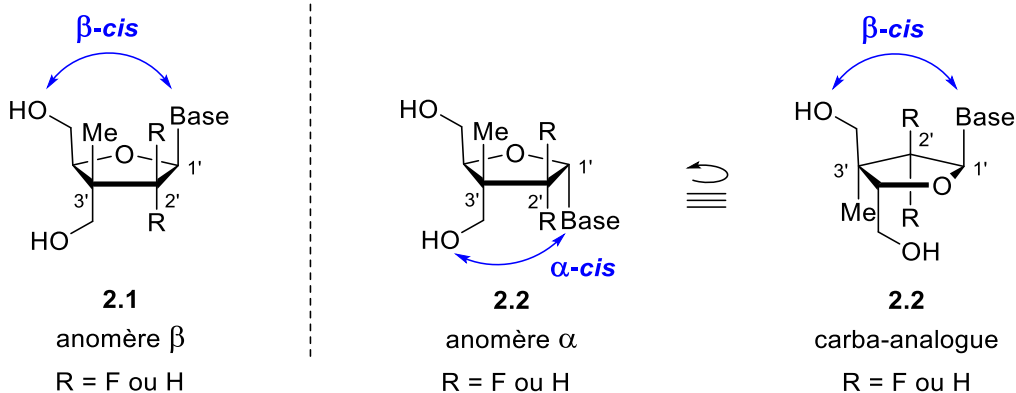


Figure 16. – Caractère "double face" des nucléosides

2.2 Méthodes de synthèse des analogues de nucléosides modifiés

Le développement de nouvelles stratégies pour accéder aux analogues de nucléosides modifiés représente un enjeu important afin de faciliter leurs préparations. Diverses méthodes de synthèse ont été élaborées et peuvent être regroupées dans deux catégories principales : les approches convergentes et les approches divergentes.⁸⁷ Dans l'approche convergente, la base azotée est introduite sur un dérivé du sucre au cours de la synthèse. Cette stratégie offre une grande versatilité et permet l'obtention d'une multitude de nucléosides. Dans l'approche divergente, l'analogue ciblé est obtenu suite à la transformation d'un nucléoside naturel. Bien que cette stratégie soit limitée à cause du faible *pool* de nucléosides naturels, l'avantage de cette approche réside dans la stéréochimie du lien glycosidique prédéfinie par le sucre de départ.

2.2.1 Méthodes de synthèse par approche convergente

Dans l'approche convergente, le principal défi réside dans la formation stéréosélective du lien glycosidique. Afin d'obtenir un contrôle diastéréosélectif, deux méthodes développées au cours des années 80 et 90 sont principalement utilisées : la méthode de glycosylation de Vorbrüggen, également appelée réaction de silyl-Hilbert-Johnson,^{88,89} et le déplacement par réaction de type S_N2 de dérivés halofuranoses.⁸⁷ Généralement, ces méthodes mettent en jeu l'activation d'un sucre électrophile en présence d'un acide de Lewis (A.L.) suivie du couplage

d'une nucléobase silylée. La silylation des nucléobases permet d'accroître leur nucléophilicité ainsi que leur solubilité dans les solvants organiques, tout en augmentant les rendements associés aux réactions de glycosylation. Ces stratégies de glycosylation stéréosélective nécessitent souvent l'utilisation de groupements protecteurs sur les divers substrats générés au cours de la synthèse pour permettre la formation sélective des analogues de nucléosides ciblés.^{90,88,89,91,92}

2.2.1.1 N-glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs 1',2'-*trans*

De nombreux exemples de synthèse où la nucléobase est incorporée sur un sucre fonctionnalisé lors de la glycosylation sont rapportés dans la littérature. Cependant, la stéréochimie 1',2'-*trans* n'est possible qu'en présence d'un groupement protecteur sur la position C2' permettant de diriger l'attaque nucléophile de la nucléobase sur la face opposée du sucre par une assistance anchimérique (Schéma 3). Ces groupements protecteurs sont typiquement des acétates (Ac), des benzoates (Bz), des carboxybenzyles (Cbz) et des amides.^{88,89} L'activation de la position anomérique du sucre **2.3** par un acide de Lewis (ex : SnCl₄, TMSOTf) permet le départ du groupement partant X (ex : Cl, Br, OAc, OBz, OMe), engendrant la formation d'un intermédiaire oxocarbénium **2.4**. La présence de l'acétate (ou du benzoate) en position C2' stabilise la charge par délocalisation, formant ainsi l'adduit acétoxonium (ou benzoxonium) **2.5**. Ce blocage conformationnel dirige donc l'attaque nucléophile de la nucléobase silylée sur la face supérieure moins encombrée du furanose afin d'obtenir sélectivement le nucléoside 1',2'-*trans* **2.6**.^{90,88,89,91,93}

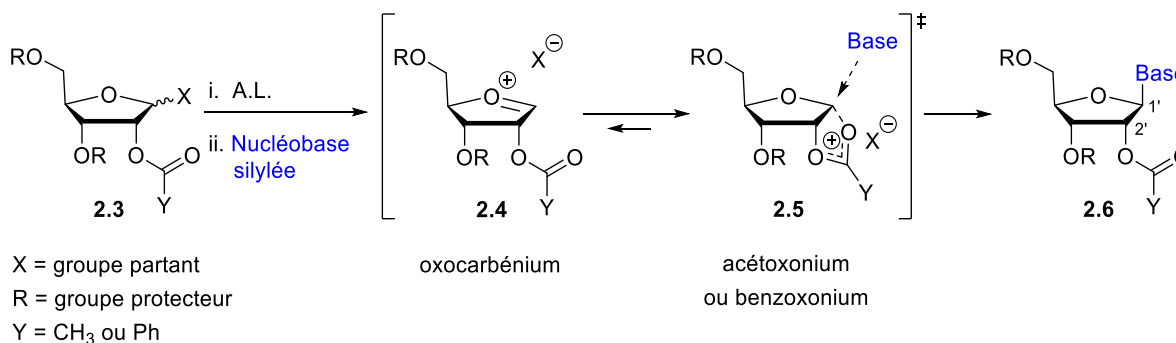


Schéma 3. – Synthèse de nucléosides 1',2'-*trans* induite par assistance anchimérique

2.2.1.2 N-glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs 1',2'-cis

Une des premières méthodes de synthèse consiste à introduire les purines selon un déplacement d'halofuranoses afin de générer des nucléosides 1',2'-cis (Schéma 4).^{90,94} Cette approche a notamment été utilisée pour la synthèse de la Fludarabine par le groupe de Montgomery qui brevetât ses travaux au début des années 80.^{95,96,97} La sélectivité en faveur de la formation majoritaire de l'anomère β **2.8** s'explique par le déplacement S_N2 de l'halogénure anomérique de **2.7** positionné préférentiellement en position *trans* par rapport au substituant en position C2'. Une optimisation de la condensation de la 2-fluoroadénine avec **2.7** fut par la suite développée par le groupe de Schulmeier en 2006.⁹⁸ Cette approche a notamment permis d'accroître la stéréosélectivité de l'anomère β **2.8** généré dans un rendement de 44 % après recristallisation.

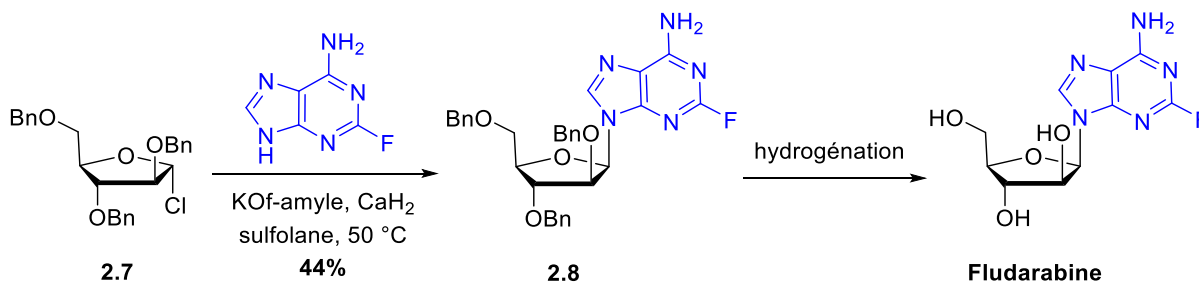


Schéma 4. – Synthèse de nucléosides 1',2'-cis par un déplacement d'halogène⁹⁸

Une autre méthode utilisant une activation au TMSOTf développée par le professeur Hanessian⁹⁹ est fréquemment utilisée. Le concept est basé sur l'activation à distance d'un bon groupement partant, le 3-méthoxy-2-pyridyloxy (MOP), présent sur le substrat **2.9** par le TMSOTf en présence de nucléobases silylées (Schéma 5). Au cours de leurs travaux, le groupe d'Hanessian a montré que cette stratégie forme préférentiellement un intermédiaire de type paire d'ions **ET2.1** stabilisé dans les solvants apolaires tel que le toluène et génère également majoritairement les nucléosides 1',2'-cis tel que le composé **2.10**.⁹⁹

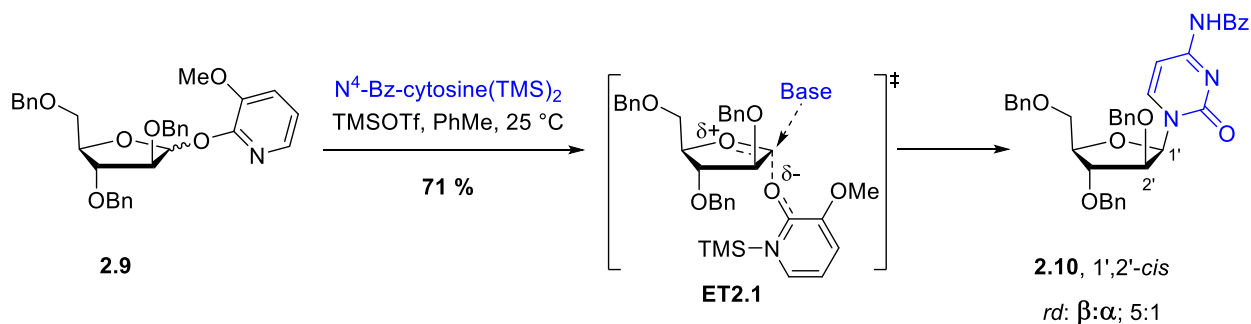


Schéma 5. – *N*-glycosylation dirigée par le TMSOTf développée par Hanessian⁹⁹

Des investigations menées par notre laboratoire ont également permis d'élucider l'aspect mécanistique des déplacements d'halofuranoses par des bases nucléiques silylées en présence de bromodiméthylborane (Me_2BBr).¹⁰⁰ Ce dernier active le lactol **2.11** pour former l'oxacarbénium **2.12** qui réagit par la suite avec la nucléobase silylée afin de générer majoritairement le nucléoside **2.13b** de stéréochimie 1',2'-*cis* (Schéma 6). Malgré la formation d'un mélange de bromofuranosides 1',2'-*cis* et 1',2'-*trans* à l'équilibre durant l'étape de bromation, la *N*-glycosylation s'effectue préférentiellement et plus rapidement sur l'intermédiaire **ET2.3** contenant le bromure anomérique en position *trans* par rapport au benzyle situé sur la position C2'. Ceci explique bien l'obtention d'un rapport diastéréoisomérique >20 :1 en faveur de **2.13b** et un rendement aux alentours de 85 % vient témoigner de l'efficacité de cette méthode de synthèse pour l'accès aux nucléosides 1',2'-*cis*. Ainsi, cette méthodologie a été appliquée pour synthétiser divers furanosides de la série D (*arabino-*, *ribo-*, *lyxo-*, *xylo-*) comportant un substituant OBn en position C2', ainsi que plusieurs autres sucres substitués par un groupe OTBS ou un fluor en C2'.

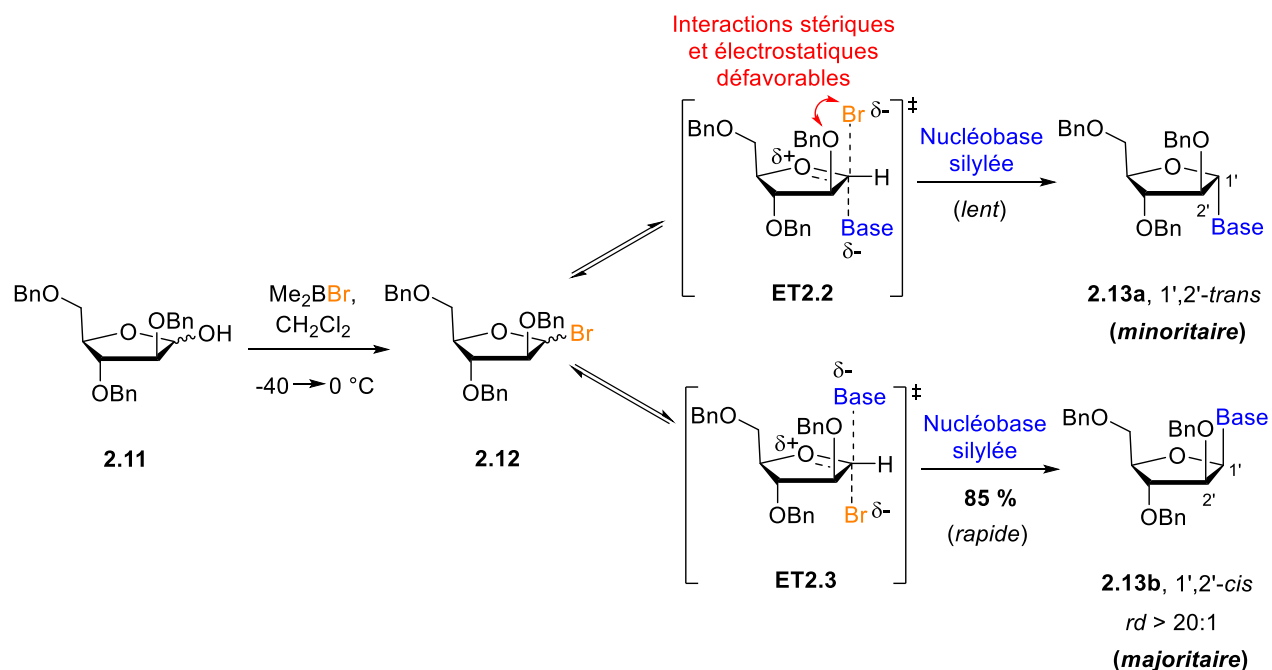


Schéma 6. – N-glycosylation en présence de Me₂BBr développée par notre laboratoire¹⁰⁰

2.2.1.3 N-glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs C2'-désoxygénés

De par l'absence de groupement voisin capable d'induire un contrôle stéréochimique en position C2', les N-glycosylations effectuées sur les dérivés C2'-désoxy conduisent généralement à des mélanges d'anomères α/β difficilement séparables.¹⁰¹ De ce fait, diverses stratégies alternatives ont été conçues afin de pouvoir introduire sélectivement la base azotée. Une première stratégie consiste à utiliser l'assistance anchimérique d'un acétate introduit en C2'. Comme précédemment, celui-ci génère le nucléoside 1',2'-trans **2.14** suite à la réaction de glycosylation. La déprotection des acétates suivie de l'introduction d'un groupement silylé bisfonctionnel entre l'alcool primaire en C5' et l'alcool secondaire en C3', permet de convertir sélectivement l'alcool en C2' en un thionoester pour former l'intermédiaire carbonothioyle réactif **2.15** (Schéma 7).^{102,103} Une réaction de Barton en condition radicalaire utilisant de l'AIBN et de l'étain permet de désoxygéner la position C2' menant ainsi à l'analogue C2'-désoxy **2.16** après déprotection des silyles à l'aide de TBAF.

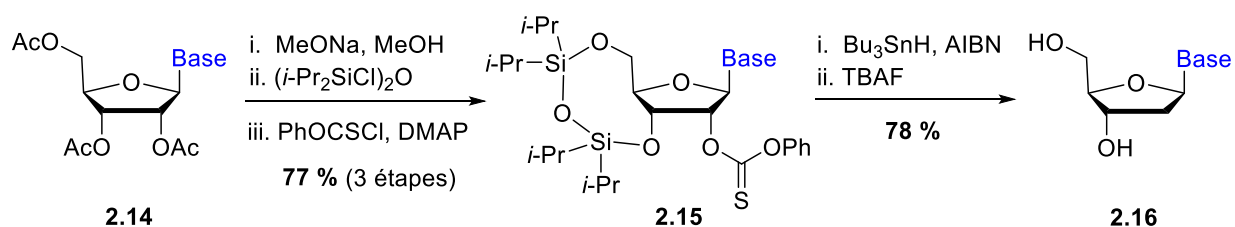


Schéma 7. – Synthèse de nucléosides C2'-désoxy par voie cyclique^{102,103}

Une seconde stratégie permet de contrôler la stéréochimie du lien glycosidique sur les nucléosides C2'-désoxy en effectuant une introduction intramoléculaire de la base pyrimidique. Cette glycosylation est rendue possible par l'incorporation préalable de la nucléobase sur l'alcool primaire C5' formant ainsi l'adduit **2.17**, puis par une protection de celle-ci par silylation pour conduire au substrat **2.18** (Schéma 8).¹⁰⁴ L'activation de la position anomérique par le TMSOTf induit la création sélective du lien glycosidique par la face supérieure du sucre, générant ainsi un mélange entre le bicyclic **2.19** et le produit désiré **2.20**. Finalement, la conversion totale de **2.19** vers **2.20** peut être complétée par un traitement en conditions basiques.

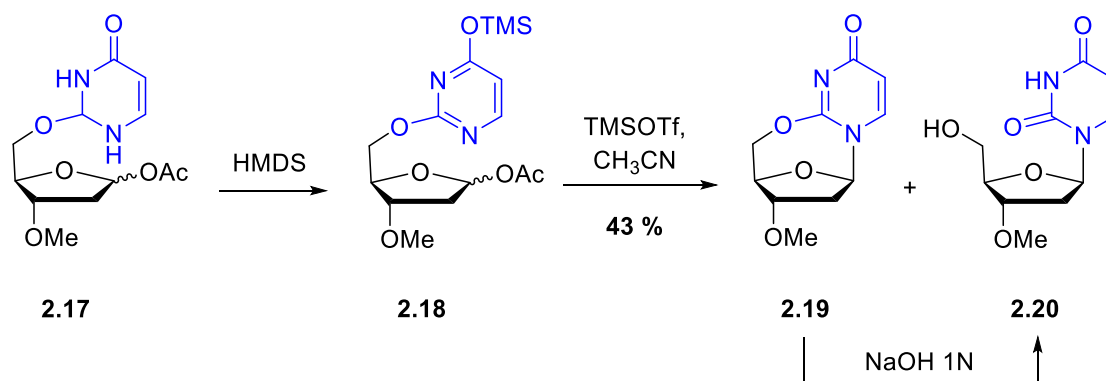


Schéma 8. – N-glycosylation par transfert interne de la nucléobase¹⁰⁴

Enfin, une autre stratégie employant une assistance anchimérique éloignée induite par un groupement en C3' situé du côté opposé au lien anomérique désiré peut être utilisée. Dans ce cas-ci, il est possible de contrôler la stéréochimie de la glycosylation sur un nucléoside C2'-désoxy. Comme pour l'assistance du groupement en C2', le groupe partant situé sur **2.21** ou **2.23** est

activé par un acide de Lewis et forme l'intermédiaire **ET2.4** ou **ET2.5** après participation du groupe protecteur en C3' (Schéma 9).^{105,106} La face inférieure étant bloquée et encombrée, l'attaque nucléophile de la base azotée s'effectue sur la face supérieure pour former majoritairement **2.22** (ratio α/β ; 1:9)¹⁰⁵ et **2.24** (ratio α/β ; 1:24).¹⁰⁶

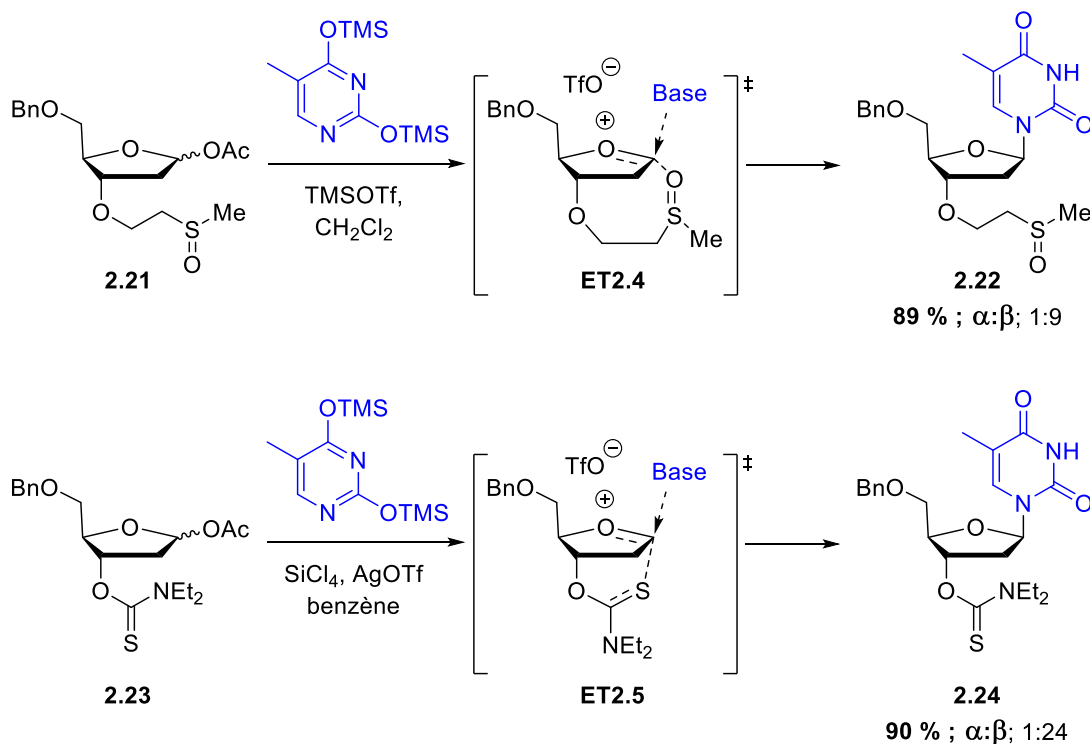


Schéma 9. – *N*-glycosylation assistée par le groupement en C3' ^{105,106}

2.2.1.4 *N*-glycosylation par voie cyclique : accès aux ANs C2'-monofluorés

L'atome de fluor empêchant l'hydrolyse des sucres, les nucléosides C2'-monofluorés sont à l'origine de nombreux défis synthétiques permettant leurs conceptions. Plusieurs de ces nucléosides sont notamment synthétisés sur grande échelle comme la Clofarabine (Schéma 10).^{107,108} Sa synthèse débute par la bromation du 1,3,5-tri-*O*-benzoyl-2-désoxy-2-fluoro- α -D-arabinofuranose commercial, qui permet de générer le bromofuranose **2.25**. L'addition de la 2-chloroadénine en présence de *tert*-butylate de potassium génère le produit de glycosylation majoritaire **2.26** de stéréochimie 1',2'-*cis* avec une sélectivité de 15:1 en faveur de l'anomère β .

La Clofarabine est finalement obtenue par recristallisation après la déprotection des benzoates en conditions basiques dans un rendement de 64 %.

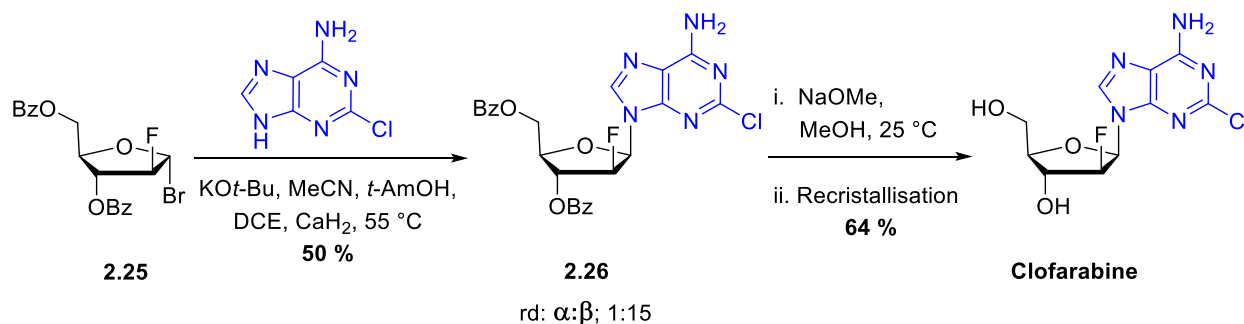


Schéma 10. – Synthèse à grande échelle de la Clofarabine^{107,108}

Quelques analogues 1',2'-*trans* peuvent également être préparés par voie cyclique. Dans un brevet déposé en 2014 par Liotta,¹⁰⁹ deux nucléosides de cette stéréochimie ont pu être synthétisés (Schéma 11). À partir du lactol **2.27**, une réaction de chloration permet de générer l'adduit **2.28** qui par la suite va subir l'incorporation d'une chloropurine modifiée par glycosylation donnant majoritairement l'anomère β C2'-monofluoré **2.29**. D'autre part, le lactol **2.27** peut être acétylé en **2.30** dans le but d'incorporer une base pyrimidique modifiée et ainsi former le produit de glycosylation **2.31** majoritaire de stéréochimie 1',2'-*trans*. De manière générale, l'utilisation de cette approche cyclique en présence d'un atome de fluor en C2' a tendance à favoriser la formation de l'anomère β .

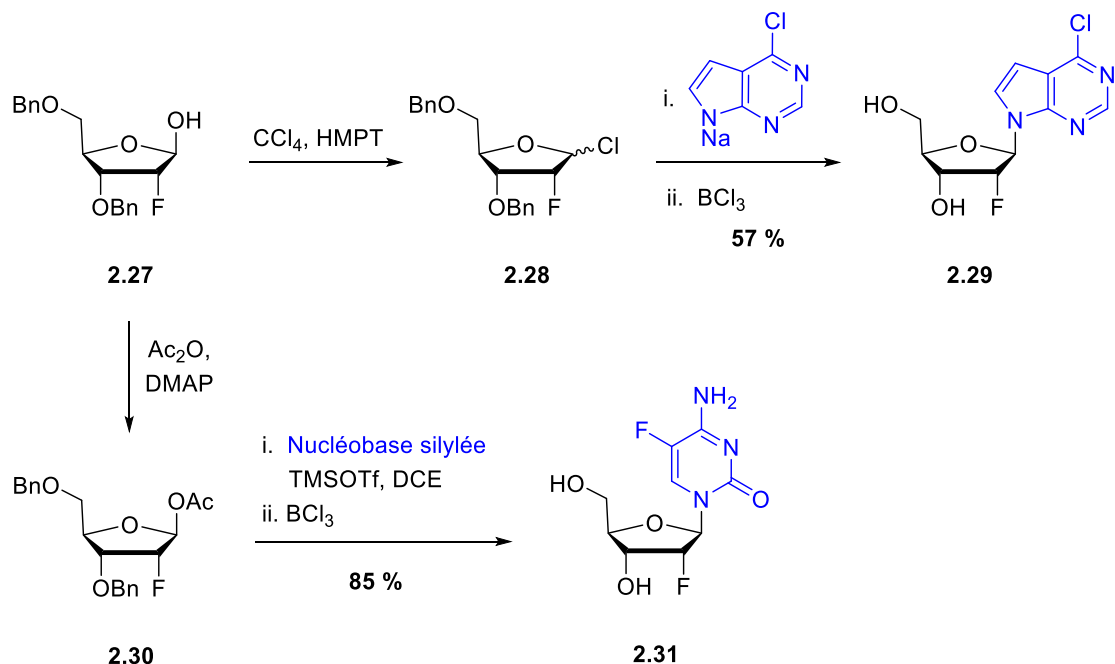


Schéma 11. – Synthèse de nucléosides C2'-monofluorés 1',2'-*trans* selon une approche cyclique¹⁰⁹

2.2.1.5 *N*-glycosylation par voie acyclique

La *N*-glycosylation par voie acyclique est une alternative pour l'obtention stéréosélective d'analogues de nucléosides. Elle permet d'incorporer la base azotée sur un intermédiaire acyclique au cours de la synthèse et de générer ensuite le nucléoside désiré via une cyclisation intramoléculaire. Cette approche acyclique fut employée pour la première fois par Liotta¹¹⁰ dans la synthèse de la Zidovudine (Schéma 12). Le contrôle stéréosélectif du centre anomérique se situe lors de l'étape de cyclisation des deux épimères du composé acyclique **2.33**, généré par l'introduction de la thymine silylée sur l'acétal **2.32** en présence de TMSOTf. L'activation de **2.33** en milieu acide conduit à la formation d'un intermédiaire iminium **2.34** qui par une cyclisation intramoléculaire stéréosélective mène à la Zidovudine. Cette stéréosélectivité s'explique par le passage d'un état de transition **ET2.6** commun aux deux épimères lors de la cyclisation, qui est favorisé par la stabilisation d'un effet gauche entre l'azoture et l'alcool primaire ainsi qu'une minimisation de la tension allylique-1,3.

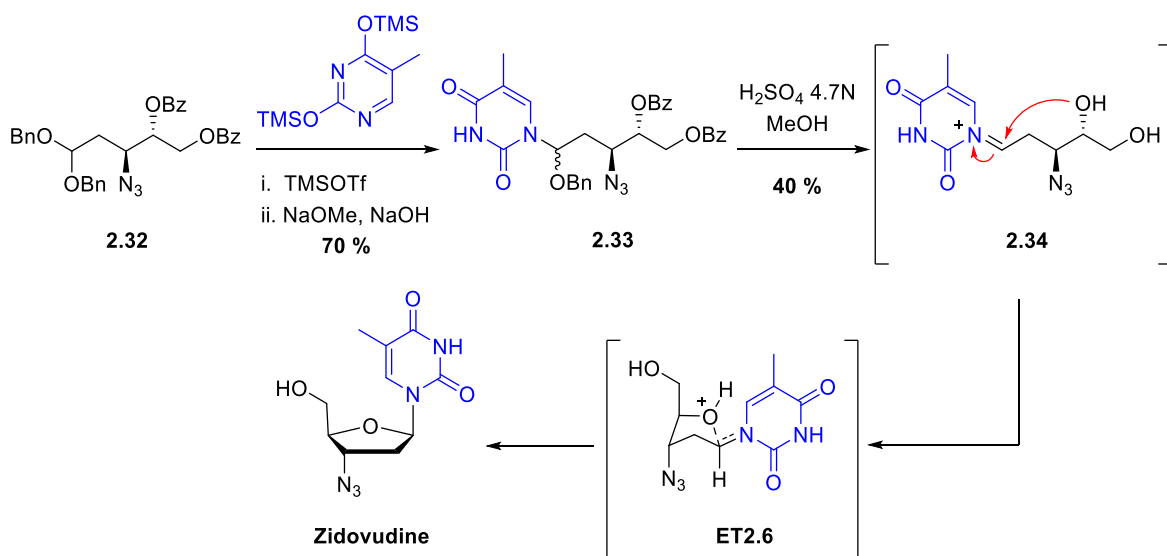


Schéma 12. – Synthèse de la Zidovudine selon une approche acyclique¹¹⁰

Le groupe du professeur Hanessian a également utilisé une approche acyclique pour introduire une adénine sur un précurseur dithioacétal **2.35** lors de la synthèse d'antibiotiques nucléosidiques (Schéma 13).¹¹¹ La formation du thioaminal **2.36** dans un ratio diastéréomérique de 1:1 permet de générer subséquemment par une activation au dibrome le bicyclic **2.37** désiré dans un mélange diastéréomérique similaire (1:1).

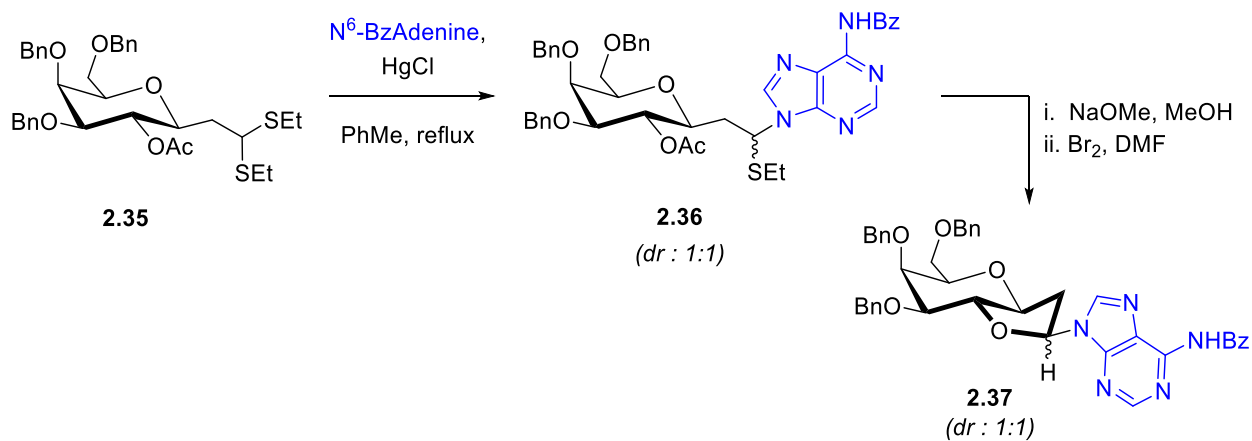


Schéma 13. – Synthèse et cyclisation d'un précurseur thioaminal¹¹¹

Face à la flexibilité que cette approche offre pour l'accès à de nombreux nucléosides, notre laboratoire s'est inspiré de ces travaux préliminaires afin de développer une toute nouvelle stratégie pour le couplage diastéréosélectif de la nucléobase sur un dithioacétal acyclique **2.38** activé par de l'iode (Schéma 14).^{112,113} Grâce à plusieurs études DFT menées par notre groupe, il a été mis en évidence que la nucléobase silylée s'additionne sur un intermédiaire thiocarbénium **ET2.7** généré in situ de conformation éclipsée gauche avec le groupement polaire en position C2'. Cette préférence conformationnelle s'explique par la maximisation des interactions électrostatiques entre le thiocarbénium et le groupement électronégatif, ainsi que par l'hyperconjugaison des liens C-H et C-R. L'addition de la nucléobase se fait sur la face la moins encombrée pour donner le produit d'addition majoritaire 1',2'-syn **2.39**.¹¹⁴ Dès lors, deux modes de cyclisation intramoléculaire de **2.39** selon un mécanisme « S_N2-like » sont possibles : la cyclisation O4'→C1' où l'oxygène nucléophile déplace le thioéther activé formant ainsi le nucléoside **2.40**, et la cyclisation S1'→C4' dans laquelle le soufre nucléophile déplace le mésylate, conduisant ainsi au thionucléoside **2.41** après désalkylation intrinsèque de ce dernier au cours de la réaction.

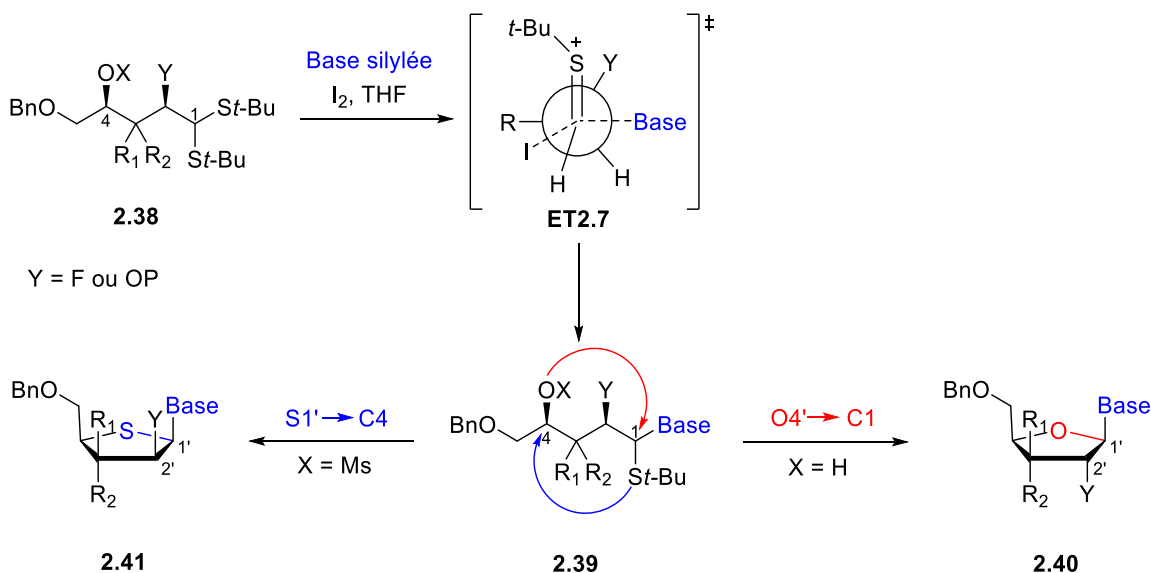


Schéma 14. – Approche acyclique développée par notre groupe permettant un couplage diastéréosélectif de la nucléobase^{112,113,114}

Cette nouvelle stratégie a permis de synthétiser de nombreux nucléosides de série D (*arabino-*, *xylo-*, *ribo-*, *lyxo-*) mais également des thionucléosides de série L (*thioarabino-*, *thioxylo-*, *thioribo-*, *thiolyxo-*) avec des rendements bien supérieurs au 40 % obtenu par Liotta dans sa synthèse de la Zidovudine.¹¹⁰ Plus récemment, notre groupe a appliqué cette méthodologie sur des substrats acycliques monofluorés en C2' pour la synthèse diastéréosélective de furanosides et thiofuranosides monofluorés en C2' de série D.³⁰

2.2.2 Méthodes de synthèse par approche divergente

Malgré le faible *pool* de nucléosides naturels disponibles pour l'usage de cette approche, plusieurs analogues à structure glucidique modifiée ont pu être préparés sans altération du lien glycosidique de stéréochimie établie naturellement.⁸⁷ En outre, divers nucléosides non-naturels au lien glycosidique prédéfini sont commercialement disponibles et utilisés en tant qu'intermédiaires synthétiques pour la préparation à grande échelle d'agents thérapeutiques (anticancéreux, antiviraux).

2.2.2.1 Synthèse de nucléosides C2'-monofluorés par approche divergente

Les analogues C2'-monofluorés peuvent également être préparés par une approche divergente à partir d'un nucléoside naturel au lien glycosidique prédéfini et disponible commercialement. Cette stratégie nécessite l'utilisation d'une source de fluor nucléophile comme le DAST ou un agent usuellement utilisé pour déprotéger un groupement protecteur silylé tel que l'HF-triéthylamine ou le TBAF. Le fluor déplace ainsi le groupement partant situé en C2' sur les sucres **2.43** et **2.46**, générés respectivement à partir des substrats **2.42** et **2.45** (Schéma 15).^{115,116} Le déplacement du triflate de **2.43** par du HF-triéthylamine conduit à la formation du nucléoside **2.44** de stéréochimie 1',2'-*cis*¹¹⁵ tandis que dans le cas de l'adduit **2.46**, le nucléoside **2.47** de stéréochimie 1',2'-*trans* est généré lorsque le triflate est déplacé par du TBAF.¹¹⁶

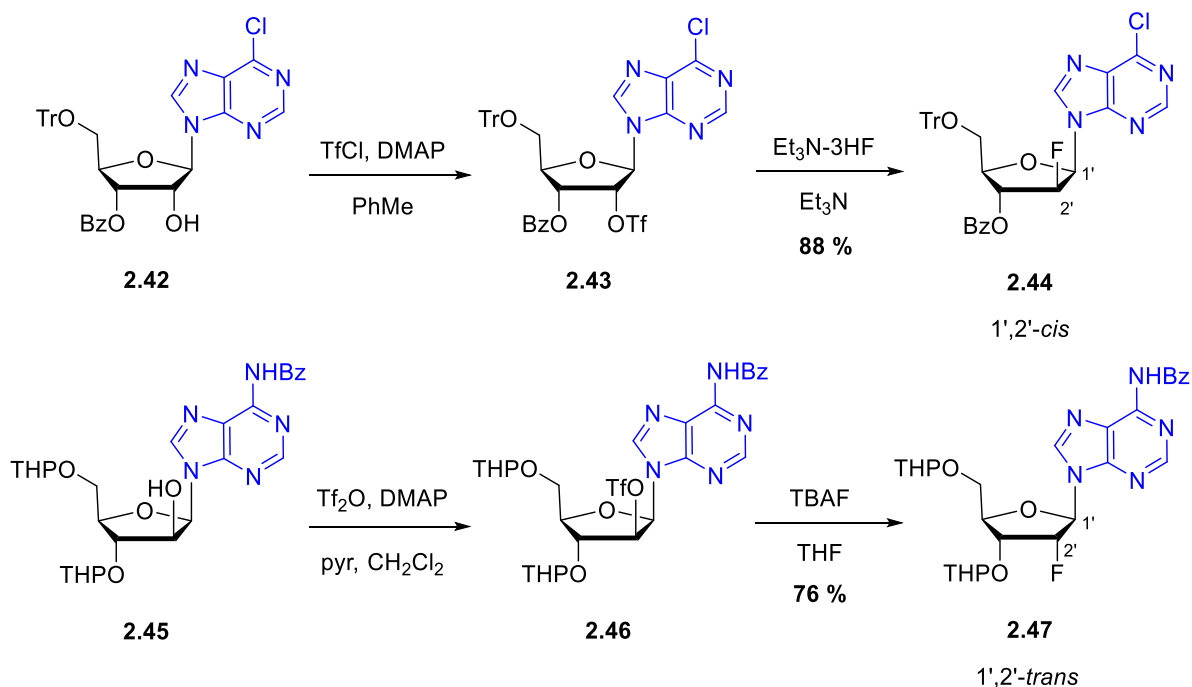


Schéma 15. – Synthèse de nucléosides C2'-monofluorés par une approche divergente^{115,116}

2.2.2.2 Le cas du Sofosbuvir

Cet agent antiviral utilisé dans le traitement de l'hépatite C est synthétisé à grande échelle selon une approche divergente (Schéma 16). Le produit de départ est la cytidine, disponible commercialement et peu coûteuse, sur laquelle plusieurs stratégies de protection des divers groupements réactifs sont préalablement effectuées afin de pouvoir oxyder sélectivement l'alcool secondaire en cétone **2.48** sur la position C2'. La conversion de **2.48** en alcool tertiaire en présence de MeLi et le remplacement du disiloxane par des benzoates conduit à la formation de **2.49**. Ce dernier subit une attaque nucléophile du DAST sur l'alcool tertiaire afin d'incorporer l'atome de fluor nécessaire en position C2' de **2.50**. Cette réaction de fluoration est l'étape limitante de cette voie de synthèse dont le rendement n'excède pas les 20 % en plus des différents produits secondaires non désirés. Après déprotection totale puis incorporation du phosphoramidate en C5', le Sofosbuvir est finalement généré dans un rendement global de 2.1 % sur 10 étapes.¹¹⁷

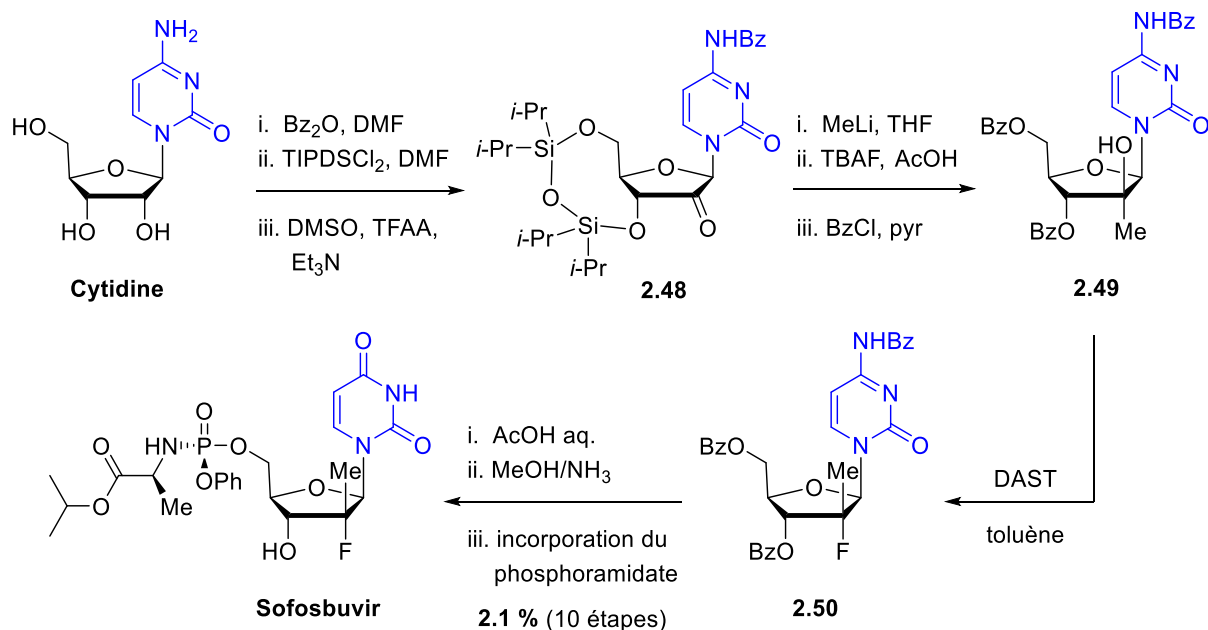


Schéma 16. – Synthèse du Sofosbuvir à grande échelle selon une approche divergente¹¹⁷

2.3 Perspectives de recherche

Au cours de ce chapitre, les diverses stratégies de modifications et les différentes approches synthétiques permettant d'accéder aux analogues de nucléosides aux fortes propriétés thérapeutiques ont été présentées. Leurs modifications structurales comme l'incorporation d'atome(s) de fluor en C2' leur permettent de trouver plusieurs applications biologiques pour le traitement de divers cancers et infections virales. Cependant, leurs synthèses sont souvent complexes et elles nécessitent l'emploi d'une stratégie spécifique efficace pour leurs obtentions. Les divers exemples de synthèses de nucléosides présentés au cours de ce chapitre témoignent bien de l'importance et de la complexité à établir des stratégies efficaces pour générer de façon stéréosélective ces cibles en un minimum d'étapes et dans un bon rendement global. C'est la raison pour laquelle au sein de notre laboratoire, nous nous efforçons continuellement de trouver de nouvelles stratégies efficaces pour faciliter leurs préparations.

Dans le chapitre suivant, l'élaboration d'une nouvelle stratégie de synthèse mettant en jeu une réaction d'aldolisation de Mukaiyama énantiosélective, suivie de la formation d'un centre

quaternaire carboné par transfert radicalaire intramoléculaire est présentée. Le point de départ de cette approche réside dans l'introduction d'un groupement protecteur spécifique sur le substrat de départ dans le but d'obtenir une orthogonalité synthétique ainsi qu'une résistance aux diverses conditions réactionnelles rencontrées au cours de la synthèse. En outre, cette stratégie a été appliquée pour la synthèse de nucléosides C2'-monofluorés appartenant à la famille de la série (D)-1',2'-*trans* furanoside, dont la nucléobase est sélectivement incorporée en α sur la position anomérique. Par ailleurs, une nouvelle famille d'analogues de nucléosides possédant un sucre 2'-désoxyribose et un centre quaternaire en C3' a également pu être élaborée en utilisant cette méthodologie. La synthèse de ces analogues est présentée dans le chapitre 4 de ce manuscrit.

Chapitre 3 – Approche pour la synthèse diastéréosélective d'analogues de nucléosides portant un fluor en position C2'

3.1 Mise en contexte

Depuis de nombreuses années, notre groupe de recherche s'intéresse à la synthèse de nouveaux analogues de nucléosides ayant pour but d'être utilisés comme potentiels antiviraux et/ou anticancéreux dans plusieurs traitements cliniques. Compte tenu des nombreux mécanismes de résistances associés aux analogues de nucléosides, plusieurs investigations réalisées au cours de ces dernières années ont mené à l'élaboration d'une nouvelle famille d'analogues de nucléosides modifiés comportant un centre quaternaire carboné en position C3'.^{118,119} Afin de conférer une meilleure pénétration intracellulaire ainsi qu'une meilleure activité biologique, l'introduction sélective d'atome de fluor en C2' et de groupements fonctionnalisés en C3' fut investiguée. Par conséquent, l'objectif de mon projet fut de développer une approche permettant la synthèse diastéréosélective des analogues (D)-1',2'-*trans* furanoside **3.05** et **3.06** de configuration anomérique α porteurs d'un atome de fluor en C2' et d'un centre quaternaire carboné en C3' (Schéma 17). Les principaux défis de cette approche acyclique résident dans l'énantiosélectivité induite durant la réaction d'aldolisation de Mukaiyama à partir d'un α -alkoxy aldéhyde protégé **3.01**, ainsi que dans la compatibilité des différents groupements protecteurs orthogonaux introduits à partir du produit 2,3-*syn* **3.02**. L'installation d'un dithioacétal sur l' α -fluoro aldéhyde **3.03** nécessaire pour l'incorporation diastéréosélective de la nucléobase, ainsi que l'étape de cyclisation intramoléculaire du précurseur **3.04** activé permettant de générer uniquement l'analogue anomérique α , représentent également un défi de taille dans cette synthèse. De plus, la différenciation des deux alcools primaires présents sur l'analogue **3.05** peut offrir la possibilité de fonctionnaliser sélectivement la position C3' en fin de synthèse pour accéder aux analogues fonctionnalisés **3.06**. Des premiers tests réalisés contre une série de divers virus ont démontré que l'analogue **3.05** (LCB-1185), déjà connu dans notre groupe, a éprouvé une bonne activité biologique contre le virus de l'hépatite B (HBV). C'est pourquoi nous avons proposé

de synthétiser la prodroge **3.06** dans le but d'améliorer davantage l'activité biologique contre le virus de l'hépatite B.

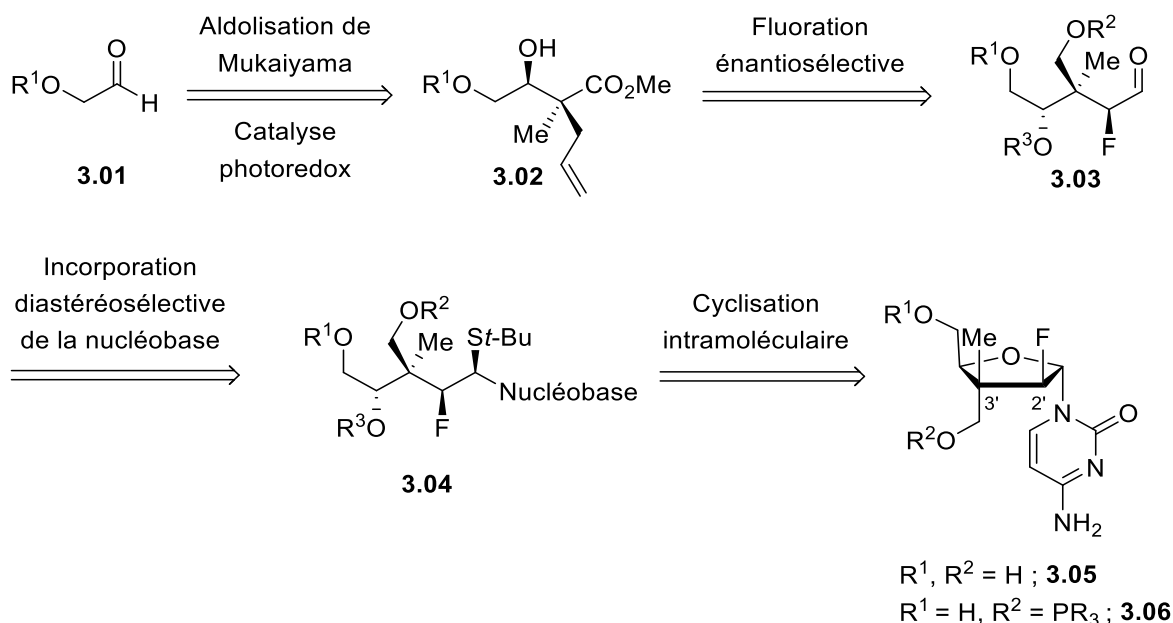


Schéma 17. – Approche pour la synthèse diastéréosélective des analogues ciblés

3.2 Stratégies de synthèse développées par notre laboratoire pour l'accès aux analogues de nucléosides portant un fluor en C2' et un centre quaternaire carboné en C3'

La synthèse des analogues modifiés portant un fluor en C2' et un centre quaternaire carboné en C3' développés au sein de notre laboratoire peut être effectuée selon deux stratégies. La première fut développée à partir de la (*R*)-3-hydroxy- γ -butyrolactone **3.07** commerciale par les docteurs Michel Prévost (associé de recherche) et Philippe Mochirian, puis optimisée par Tommy Lussier au cours de sa maîtrise.¹²⁰ Elle débute par deux alkylations de Fräter-Seebach subséquentes sur la butyrolactone chirale **3.07** pour générer la lactone porteur du centre quaternaire carboné **3.08** (Schéma 18). La réduction de cette dernière suivie de la protection des

début par une aldolisation de Mukaiyama diastéréosélective en présence d'un acide de Lewis bidentate et de l'énoxysilane **3.13** générant le produit 3,4-*anti* **3.14** avec une sélectivité de 12:1, suivi de l'installation d'un diméthylallylsilane pour former **3.15** dans un rendement de 80 % sur trois étapes. Un transfert radicalaire intramoléculaire de l'allyle initié par le triéthylborane (BET₃) génère **3.16** avec une sélectivité >20:1 pour le composé 2,3-*syn*. Cette réaction radicalaire permet de créer le centre quaternaire carboné du nucléoside. Après une cascade de réactions de protection, déprotection et réduction, l'intermédiaire triol triprotégé **3.18** est généré dans un rendement de 85 % sur 6 étapes. La suite de la synthèse est similaire à l'approche initiale décrite précédemment, le lactol **3.10** étant généré après déprotection du MEM par une solution de HCl 6N. Bien qu'elle nécessite plus d'étapes que la voie initiale utilisant l'alkylation de Fräter-Seebach, les rendements élevés et la possibilité de synthétiser les premiers intermédiaires sur une échelle de plus de 500 mmol rendent cette voie très intéressante. Cependant, malgré un bon ratio de diastéréoisomères (*rd* > 12:1) et un bon rendement (80 %) pour générer **3.15** à partir du D-glycéraldéhyde **3.12**, plusieurs étapes supplémentaires sont nécessaires pour transformer ce produit, y compris un clivage oxydatif causant la perte du centre stéréogène en C4.

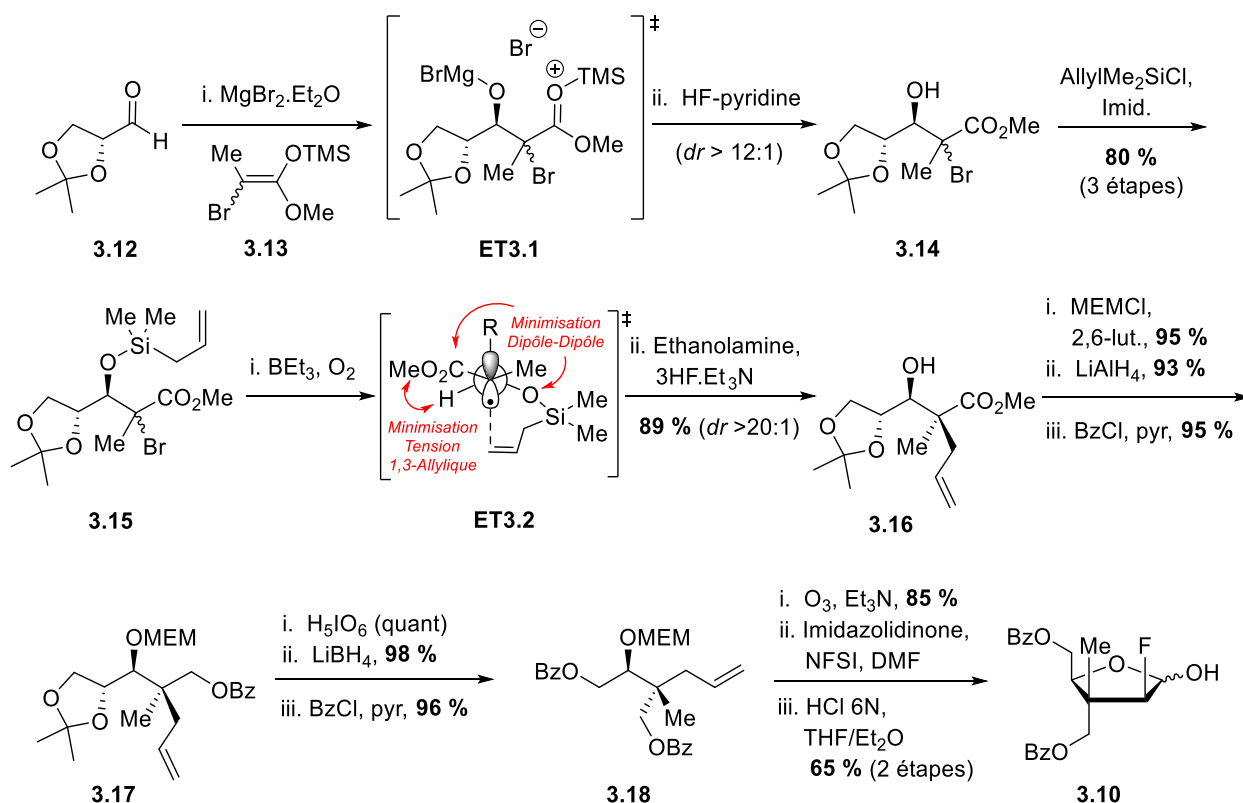


Schéma 19. – Seconde approche utilisant un transfert radicalaire intramoléculaire

3.3 Synthèse des analogues de nucléosides ciblés

Dans les stratégies de synthèse précédentes, l'incorporation de la nucléobase repose sur une réaction de glycosylation classique à partir d'un lactol substitué. Bien que cette méthode permette d'accéder aux analogues ciblés après déprotection totale, la séparation des anomères α/β est souvent complexe et les produits désirés sont récupérés dans de faibles rendements suite à plusieurs purifications successives. De plus, la réaction de glycosylation sur le lactol C2'-monofluoré semble favoriser la formation majoritaire de l'anomère β alors que les analogues **3.05** et **3.06** ciblés sont des anomères α . Ainsi, nous avons décidé d'utiliser la stratégie acyclique développée par notre groupe permettant d'introduire diastérosélectivement la nucléobase sur un précurseur acyclique comportant un atome de fluor.^{30,112-114} Cette méthode, présentée dans la section 2.2.1.5, offre la possibilité de récolter uniquement l'anomère désiré par activation du

thioéther suivie d'une cyclisation intramoléculaire. De ce fait, à mon arrivée au laboratoire, les premières investigations ont été menées sur le développement d'une nouvelle voie de synthèse acyclique permettant la formation sélective des analogues **3.05** et **3.06** ciblés à partir du 2,3-isopropylidène-D-glycéraldéhyde **3.12** (Schéma 20).

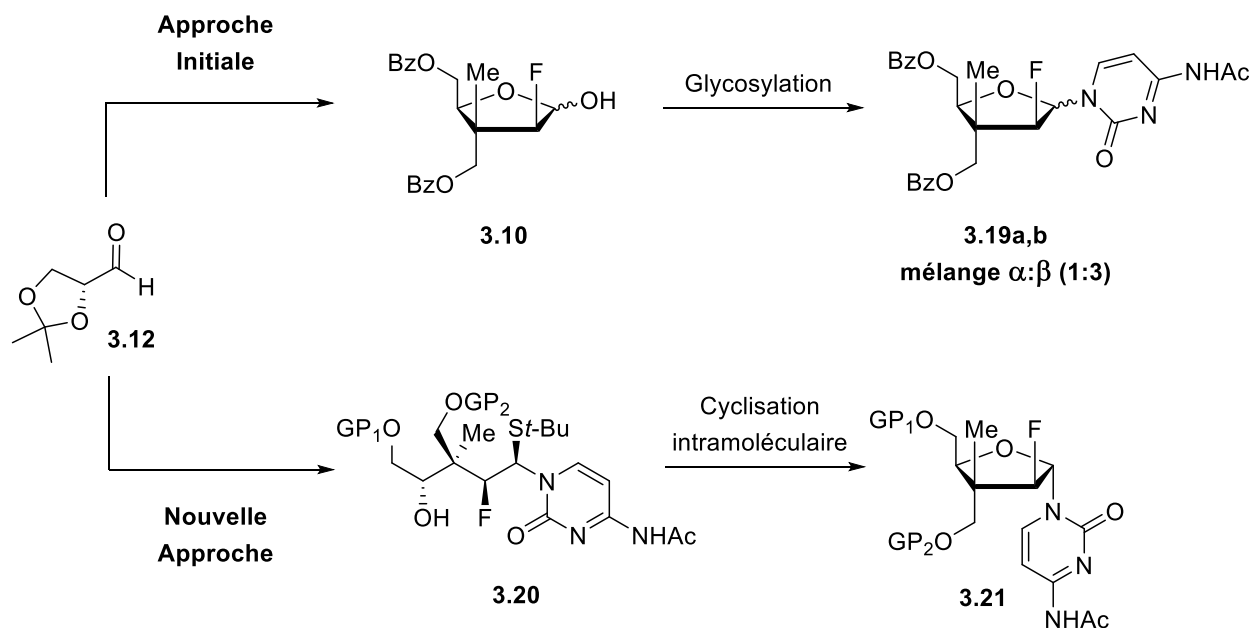


Schéma 20. – Nouvelle approche visée pour l'obtention sélective des analogues ciblés

Cette nouvelle approche acyclique permet de différencier en début de synthèse les deux alcools primaires de l'intermédiaire **3.21** par l'introduction de groupes protecteurs orthogonaux (GP_1 et GP_2) tout en générant sélectivement l'anomère α . La fonctionnalisation sélective de l'analogue **3.05** conduisant aux dérivés **3.06** en fin de synthèse serait alors facilitée, ce qui pourrait lui conférer de meilleures propriétés biologiques en milieu cellulaire (lipophilicité accrue, pénétration cellulaire facilitée et esquivance de la première phosphorylation). Afin d'apporter plus de clarté concernant cette approche, la rétrosynthèse de cette nouvelle voie permettant l'obtention sélective des analogues **3.05** et **3.06** est présentée à travers le Schéma 21 ci-dessous.

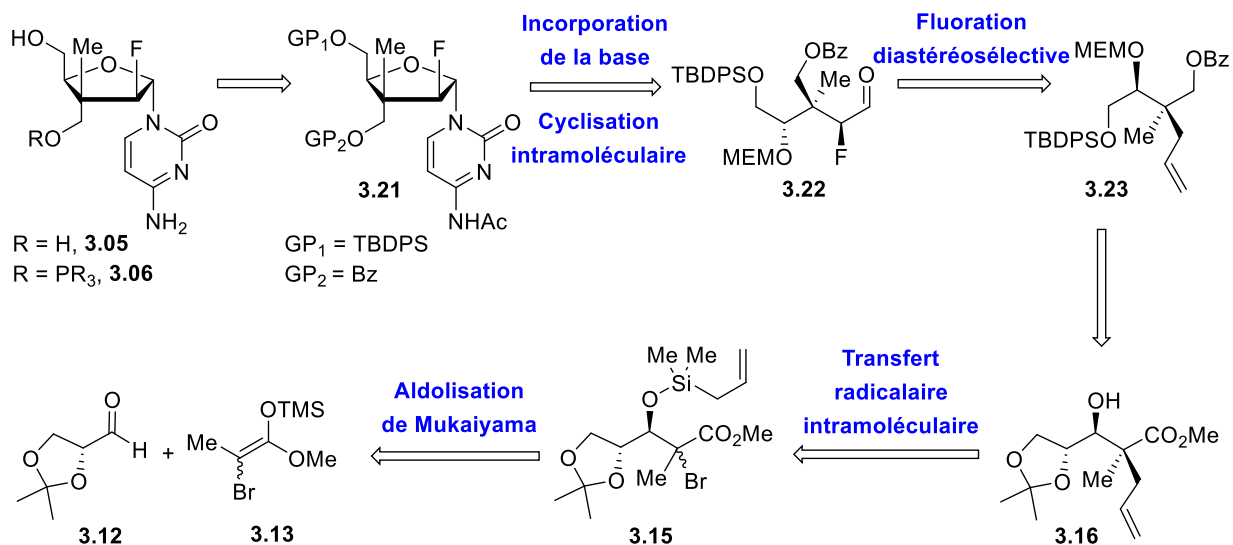


Schéma 21. – Rétrosynthèse de la nouvelle approche acyclique envisagée

3.3.1 Premières investigations

Les premières réflexions furent portées sur le choix des groupements protecteurs orthogonaux GP₁ et GP₂ qui seront utilisés tout au long de la synthèse. Les nucléosides ciblés étant tous de configuration anomérique α , la fonctionnalisation de **3.05** en **3.06** doit impérativement se faire sur l'alcool primaire du centre quaternaire en C3' pour pouvoir être reconnu par la cellule. Dans le cas de l'analogue **3.06**, la fonctionnalisation visée peut correspondre à l'incorporation d'un phosphoramidate en fin de synthèse.^{8,13,14} Or, ce dernier contient un groupement ester qui est clivé en milieu intracellulaire par des estérases lors du relargage du nucléoside sous sa forme monophosphate dans la cellule. Ainsi, il ne peut être installé en présence d'un acétate ou d'un benzoate à cause de sa dégradation dans les conditions de déprotection classique en milieu basique. Par conséquent, le premier choix de groupement protecteur fut de conserver le benzoate en position C3' (GP₂). A l'inverse, par souci d'orthogonalité, GP₁ doit être un groupement protecteur résistant aux conditions de déprotection en milieu basique. Malgré plusieurs options disponibles (trityle, benzyle, 4-méthoxybenzyl éther), notre choix pour GP₁ s'est orienté vers l'utilisation du *tert*-butyldiphénylsilyle (TBDPS) découvert par Hanessian en 1975.¹²¹ En effet, certaines conditions acides utilisées en cours de synthèse empêchent l'utilisation du

trityle, et il est très difficile de déprotéger le benzyle (Bn) ou le 4-méthoxybenzyl éther (PMB) sans dégrader la cytosine en fin de synthèse. En revanche, la déprotection sélective du TBDPS à l'aide d'un agent fluoré lui permet d'être un candidat de choix pour notre voie synthétique.

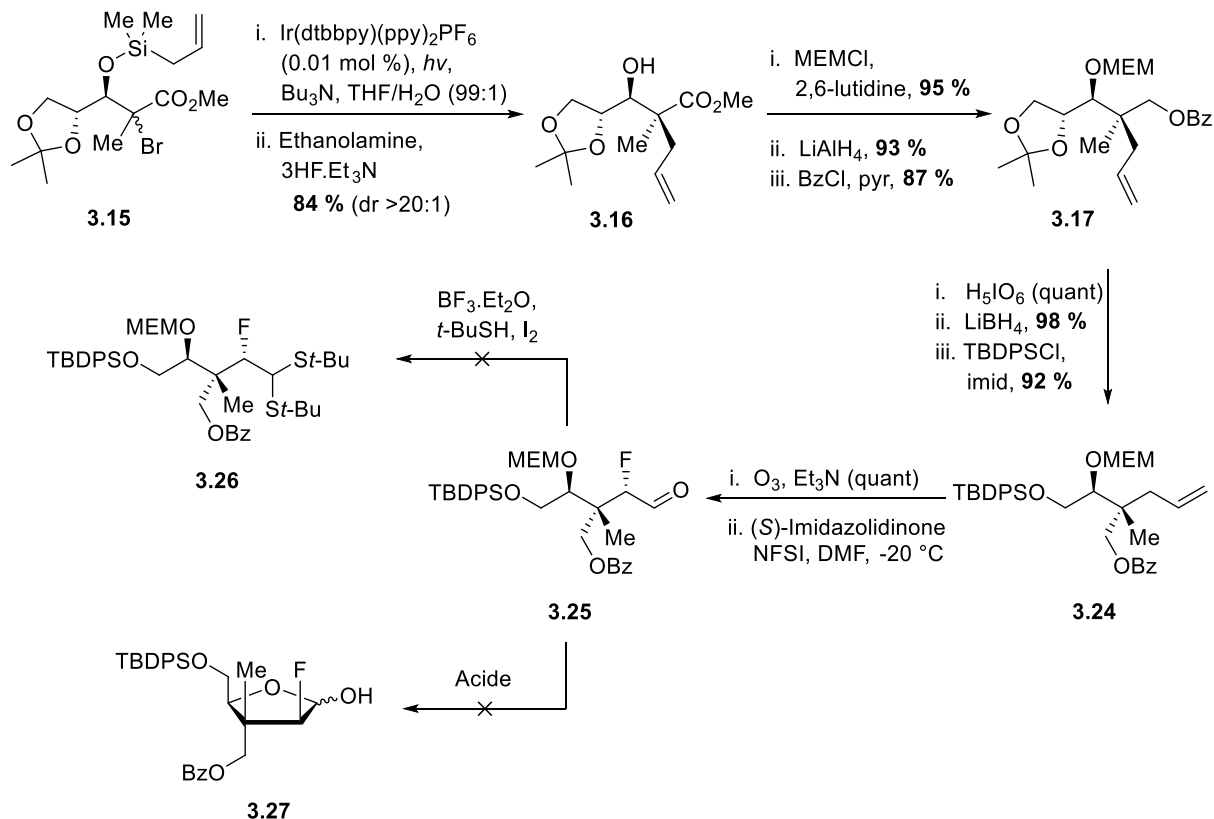


Schéma 22. – Première voie investiguée pour la différenciation des alcools primaires

La synthèse envisagée débute de manière identique avec la seconde approche, la seule variante se situant lors de l'étape de construction du centre quaternaire de **3.16** (Schéma 22). Les conditions développées par Tommy Lussier durant sa maîtrise à base d'un complexe d'iridium (III) activé par une source de lumière à diode électroluminescente bleue (LED bleue) permettent de générer efficacement le centre quaternaire avec une diastéréosélectivité >20:1.¹²⁰ Le milieu réactionnel (mélange THF/eau) ainsi que la quantité catalytique (0.01 mol %) nécessaire pour initier la réaction offrent une alternative plus pratique et plus écologique aux premières conditions requérant le lent ajout d'une quantité équimolaire de triéthylborane tout en faisant buller du dioxygène.¹²² L'adduit **3.17** est généré selon les mêmes conditions que

précédemment,²⁹ puis transformé en un intermédiaire clé triprotégé **3.24**. L'unique variation se situe au niveau de l'installation du TBDPS à la place du benzoate (Bz) sur l'alcool primaire généré lors de la réduction de l'aldéhyde à l'aide de LiBH₄, apportant ainsi la différenciation recherchée. Une ozonolyse suivie de la fluoration diastéréosélective utilisant la (*S*)-imidazolidinone chirale de MacMillan¹²³ comme source de catalyseur en présence de NFSI à -20 °C permet de générer l' α -fluoro aldéhyde **3.25**. L'énantiosélectivité est induite par la chiralité du benzyle porté sur le catalyseur lors de la formation de l'iminium **3.A**. L'équilibre avec la forme énamine **3.B** permet au fluor de s'additionner dans le plan opposé au benzyle à cause de l'encombrement stérique et ainsi de former sélectivement l'intermédiaire **3.C**, qui après traitement, génère **3.25** (Schéma 23).

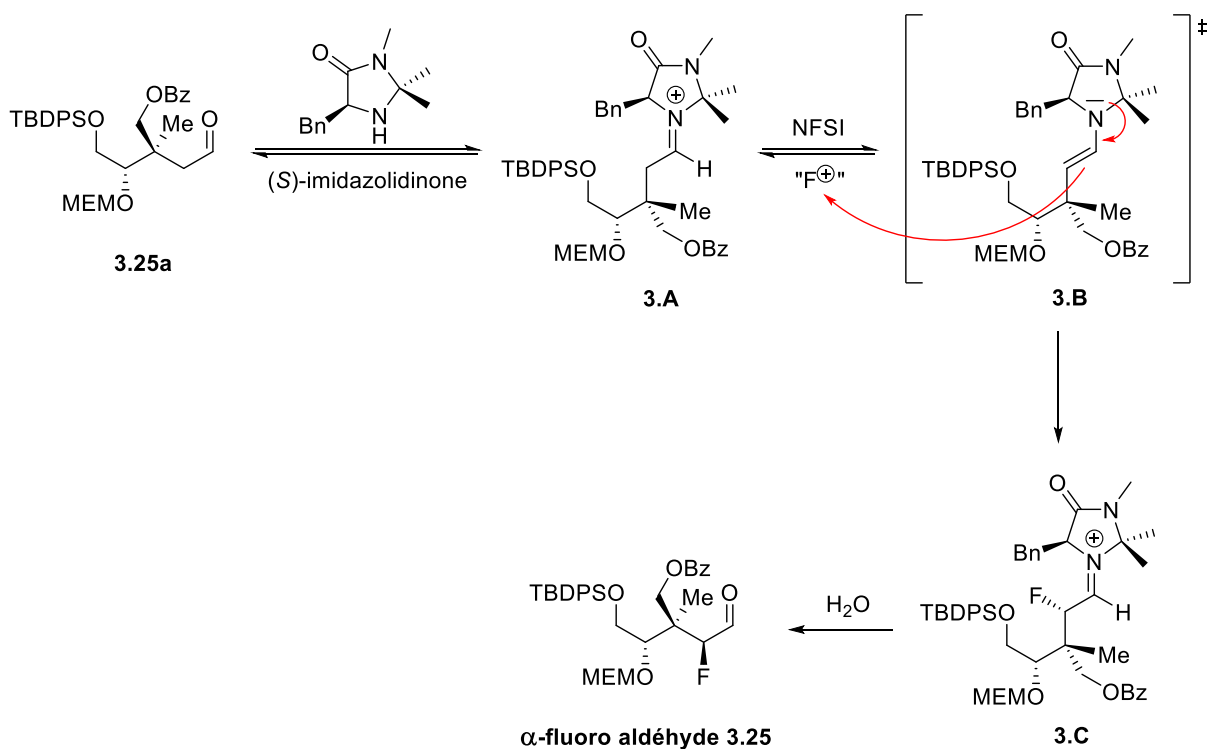
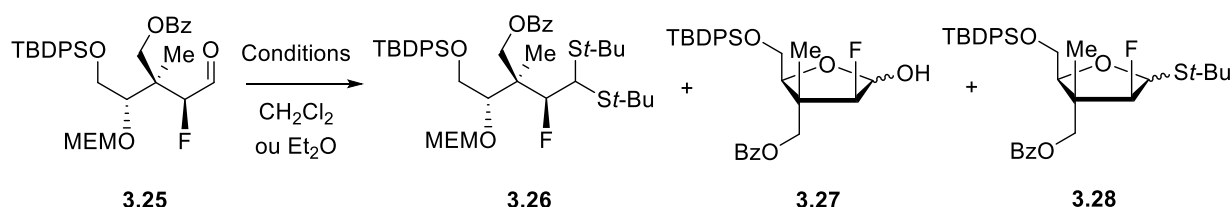


Schéma 23. – Fluoration diastéréosélective utilisant le catalyseur chiral de MacMillan

Généralement, l' α -fluoro aldéhyde **3.25** est également conservé sous sa forme brute pour l'étape suivante afin d'éviter une possible épimérisation observée sur d'autres substrats similaires lors de la purification sur gel de silice. Au cours de l'étape suivante, le dithioacétal **3.26** n'a pu être récupéré à cause de l'instabilité du 2-méthoxyéthoxyméthyl éther (MEM) en présence de

l'acide de Lewis, y compris à basse température (entrées 1 et 2, Tableau 1). Plusieurs produits secondaires ont été obtenus et identifiés, dont parmi eux une faible quantité du lactol **3.27** ainsi que de son dérivé thioéther **3.28**. Les conditions acides requises pour installer le dithioacétal **3.26** étant incompatibles avec le MEM, il est nécessaire de le substituer par un autre groupe protecteur suffisamment stable pour permettre la viabilité de cette approche acyclique envisagée.

Tableau 1. – Tentative de synthèse du dithioacétal **3.31**



Entrée	Conditions (équiv.)	Temp. (°C)	Temps (h)	Concentration (mol/L)	Résultats
1	BF ₃ .OEt ₂ (2.5), <i>t</i> -BuSH (4.0)	-60	5	0.1	3.27 (traces) + 3.28
2	BF ₃ .OEt ₂ (2.5), <i>t</i> -BuSH (4.0)	-60	3	0.1	3.27 (traces) + 3.28
3	BF ₃ .OEt ₂ (1.2)	-20	5	0.1	3.28 + dégradation
4	BF ₃ .OEt ₂ (1.2)	0	5	0.1	dégradation
5	BF ₃ .OEt ₂ (1.2)	25	5	0.1	dégradation
6	ZnCl ₂ (1.5)	25	3	0.1	3.25
7	<i>p</i> -TsOH (1.2)	25	2	0.1	dégradation
8	HCl	25	2	6	dégradation

En parallèle de nos investigations, nous avons essayé d'optimiser la formation du lactol **3.27** à partir de l' α -fluoro aldéhyde **3.25** restant dans le but de générer l'intermédiaire diprotégé **3.21** lors de la réaction de glycosylation subséquente. Bien que l'anomère β soit majoritaire, l'idée était de séparer les deux anomères suite à la déprotection sélective du benzoate situé sur la position C3' pour récupérer uniquement l'anomère α et ainsi générer rapidement les dérivés fonctionnalisés **3.06**. Plusieurs essais ont été réalisés en faisant varier la température

réactionnelle (entrées 3, 4, 5) mais aucun clivage sélectif du MEM n'a été observé en présence du $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, le TBDPS ayant également été clivé causant ainsi la formation de plusieurs produits de dégradation. Les conditions de déprotection sélective du MEM par du ZnCl_2 développées par Corey¹²⁴ furent ensuite essayées, mais le produit de départ **3.25** fut récupéré dans sa totalité (entrée 6). D'autres tests en présence de *p*-TsOH (entrée 7) et d'une solution d'HCl 6N (entrée 8) ont aussi été testés, et le clivage simultané du MEM et du TBDPS a été une fois de plus observé.

3.3.2 Synthèse de l'intermédiaire clé triprotégé **3.32**

Face aux difficultés rencontrées lors de la formation du dithioacétal **3.25**, nous avons décidé de remplacer le MEM par un triéthylsilane (TES). Suite à la réduction du méthyl ester de **3.16**, l'alcool primaire est sélectivement protégé sous forme de benzoate en conditions contrôlées (quantité stœchiométrique, température de $-20\text{ }^\circ\text{C}$), puis l'alcool secondaire est protégé en éther TES pour générer **3.29a** dans un rendement de 55 % sur trois étapes (Schéma 24). Cependant, l'acide périodique utilisé pour la déprotection de l'acétal suivi du clivage du diol in situ n'a pas permis de récupérer **3.30**, le TES ayant lui aussi été clivé en conditions acides. Un mélange de plusieurs produits secondaires inséparables a été récolté, dont deux majoritaires correspondants au produit **3.30** dépourvu du TES, ainsi que du produit contenant l'aldéhyde formé lors du clivage du 1,2-diol des deux alcools secondaires déprotégés. Ces deux sous-produits ont pu être identifiés par l'analyse RMN ^1H du produit brut.

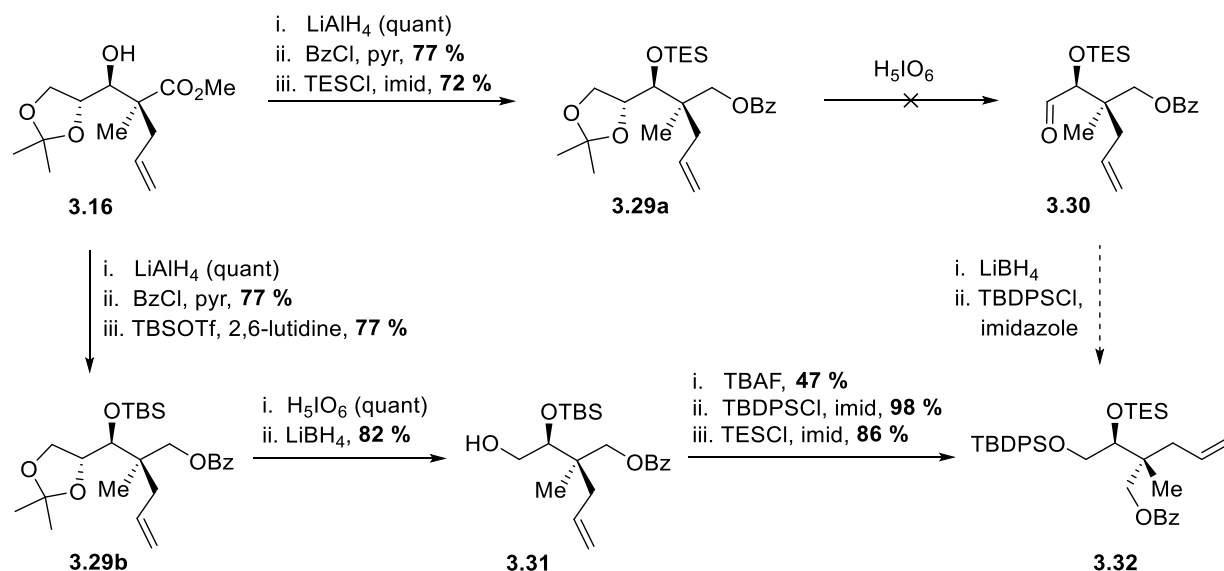


Schéma 24. – Synthèse de l'intermédiaire clé triprotégé **3.32**

Pour contourner ce problème, nous avons décidé de repasser par la synthèse de l'intermédiaire connu **3.29b**. Le *tert*-butyldiméthylsilyle (TBDMS ou TBS) positionné sur l'alcool secondaire est suffisamment robuste pour résister aux conditions acides utilisées lors du clivage de l'acétal, à l'inverse du TES, et permet de générer efficacement le composé **3.31** également connu. Cependant, la stabilité de ce TBDMS secondaire est probablement accentuée par la présence du centre quaternaire en α . Par conséquent, le substrat **3.31** a été traité par du TBAF et le diol **3.33a** fut récolté dans un rendement de 47 %. Le faible rendement obtenu s'explique par la formation d'un produit secondaire **3.33b** correspondant à la migration du benzoate sur l'autre alcool primaire libre (Schéma 25). Cette migration peut être initiée par la formation de l'alcoolate secondaire **3.D** qui, suite à la formation de l'intermédiaire cyclique **3.E** suivi d'une prototropie, peut délocaliser la charge négative sur l'alcool primaire libre pour former l'alcoolate primaire **3.F**. La présence du benzoate sur l'alcool secondaire peut ensuite permettre la formation de l'intermédiaire cyclique à 5 chaînons **3.G** puis de l'alcoolate **3.H**, ce dernier générant ensuite le diol indésirable **3.33b** par hydrolyse. Finalement, la protection sélective de l'alcool primaire par du TBDPS suivie de l'installation du TES sur l'alcool secondaire conduisent à la formation de l'intermédiaire triprotégé ciblé **3.32** dans un rendement de 84 % sur deux étapes.

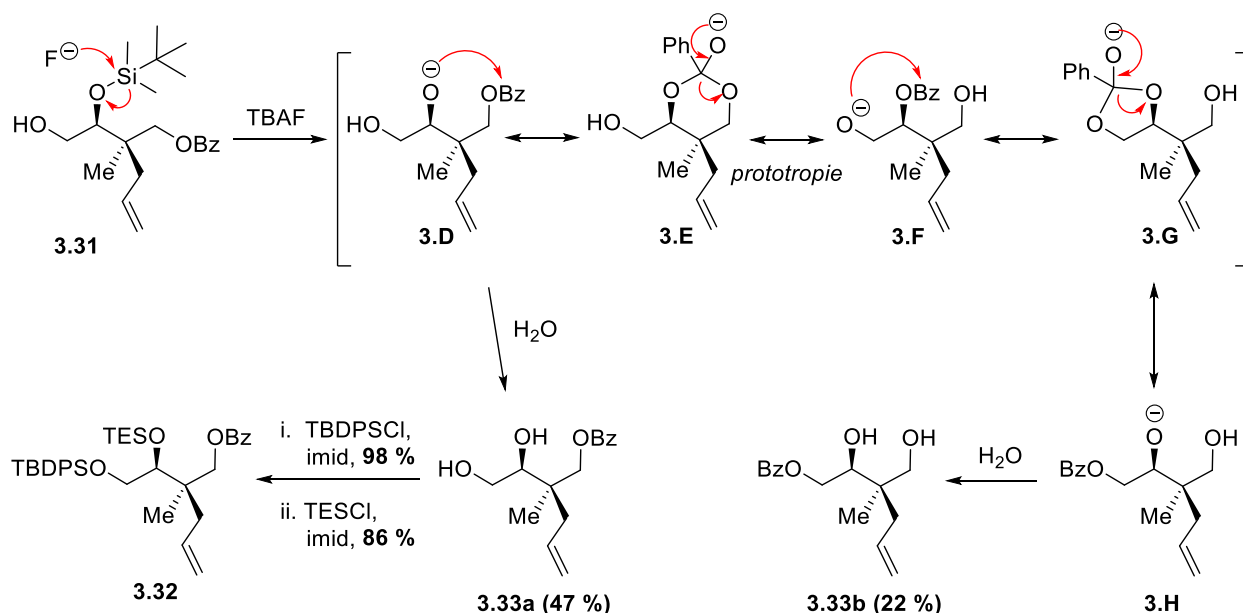


Schéma 25. – Migration du benzoate observé lors du traitement au TBAF

La limitation majeure de cette approche réside dans le nombre élevé d'étapes nécessaires pour arriver à la formation de l'intermédiaire triprotégé **3.32**. En effet, douze étapes sont nécessaires pour accéder à ce dernier à partir du 2,3-isopropylidène-*D*-glycéraldéhyde **3.12** dans un rendement global de seulement 13 %. Les nombreuses réactions de protection / déprotection nécessaires à son obtention sont responsables de la perte conséquente de matériel au cours de ce processus, notamment lors de l'étape de clivage du TBDMS par le TBAF. De plus, le centre stéréogène C4 est éliminé par clivage oxydatif durant la synthèse alors que l'ajout de chiralité sur une molécule représente un enjeu stratégique complexe pas toujours réalisable. Pour contourner ces différents problèmes rencontrés, nous avons décidé de développer une nouvelle voie de synthèse améliorée à partir d'un α -alkoxy aldéhyde porteur d'un groupement protecteur fixé au préalable sur l'alcool primaire et qui ne sera enlevé qu'en fin de synthèse.

3.3.3 Nouvelle réaction d'aldolisation de Mukaiyama énantiosélective impliquant un α -alkoxy aldéhyde prochiral

L'enjeu principal de cette voie se situe dans le développement des conditions adéquates requises pour générer la stéréosélectivité désirée lors de la réaction d'aldolisation de Mukaiyama.

Dans ce cas-ci, aucune stéréochimie n'est induite sur l'aldéhyde de départ et il est donc nécessaire d'apporter la chiralité désirée lors de la condensation aldolique. Les différents α -alkoxy aldéhydes qui ont été considérés pour l'élaboration de cette voie sont représentés sur le Schéma 26. Il est également à noter que les aldéhydes **3.34a-c** considérés comportent chacun au moins un groupement protecteur aromatique les rendant ainsi chromophores, ce qui nous permet de suivre plus facilement l'avancée de nos réactions.

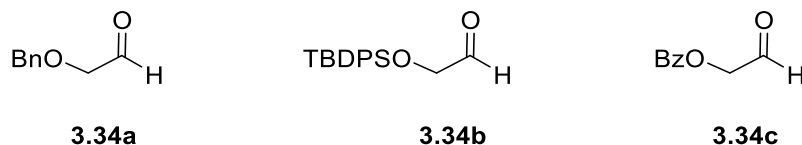


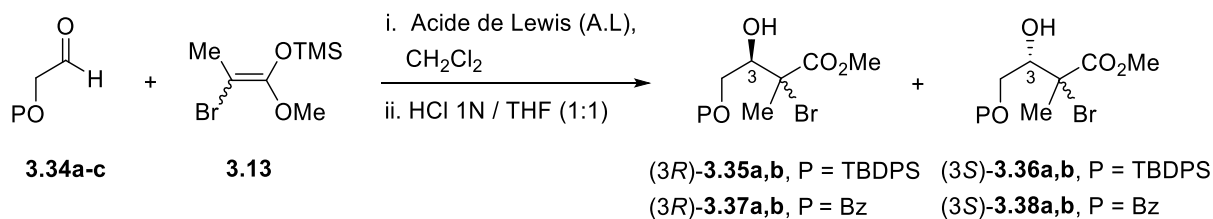
Schéma 26. – Aldéhydes envisagés comme matériel de départ

Initialement, les premières investigations furent menées à partir du benzyloxyaldéhyde **3.34a** commercial. Son coût étant relativement élevé, il est à noter qu'il peut être préparé à partir du benzyloxyacétaldéhyde diméthyl acétal en présence de résine-15 Amberlyst®.¹²⁵ Ainsi, les premières conditions réactionnelles testées furent celles rapportées par Keck¹²⁶ en 1995, à base du (*S*)-BINOL et d'un complexe de titane (IV) permettant d'induire une énantiosélectivité spécifique lors de la condensation aldolique de Mukaiyama en conditions catalytiques (entrée 1, Tableau 2). Malheureusement, l'aldolisation énantiosélective n'a pas été favorisée et l'aldéhyde de départ **3.34a** a été récolté dans sa totalité. Ainsi, nous avons décidé de reprendre les premières études^{122, 127-128} menées quelques années auparavant au sein de notre groupe à partir de l'aldéhyde **3.34b** dans le but de générer la stéréosélectivité désirée. Or, parallèlement à nos investigations, Makoto Sasaki et ses collaborateurs¹²⁹ ont rapporté dans leurs travaux la synthèse totale de deux toxines léthales appelées Polycavernosides A et B, retrouvées à leur état naturel dans les algues rouges. Cette synthèse a particulièrement attiré notre attention puisqu'elle débute par une aldolisation énantiosélective de Mukaiyama à partir de l'aldéhyde **3.34b** et d'un énolate semblable à **3.13** dont la source de chiralité est apportée par un ligand chiral, la *N*-tosyl- (*L*)-valine, incorporé in situ sur un complexe de borane tétrahydrofurane. De plus, l'aldéhyde **3.34b** correspond au choix du matériel de départ le plus en adéquation avec notre voie de

synthèse envisagée puisqu'il contient déjà le groupement TBDPS désiré par notre approche. L'aldéhyde **3.34b** bien connu dans la littérature¹³⁰ a été préparé à partir de l'incorporation d'un TBDPS sur du glycérol suivi d'un clivage du 1,2-diol par du périodate de sodium.

Afin d'identifier les quatre stéréoisomères α -bromo méthyl ester, l'aldéhyde **3.34b** a été initialement couplé à l'énolate **3.13** en présence de TiCl_4 pour générer un mélange de produits **3.35a/3.35b/3.36a/3.36b** (2:1:2:1) dans un rendement de 88 % (entrée 2, Tableau 2). Ensuite, avec la contribution du Dr. Amarender Manchoju, chercheur post-doctoral de notre groupe, plusieurs conditions réactionnelles ont été testées pour l'obtention énantiosélective des produits d'aldolisation majoritaires (*3R*)-**3.35a** et (*3R*)-**3.35b** (Tableau 2). En utilisant le *N*-tosyl-(*L*)-tryptophane à -78 °C, seulement l'aldéhyde de départ **3.34b** a été récupéré (entrée 3). Cependant, les produits (*3R*)-**3.35a,b** ont pu être formés à -40 °C dans un excellent ratio énantiomérique (ratio (*R/S*), 93:7 ; (*3R*)-**3.35a,b**/(*3S*)-**3.35a,b**) malgré un faible rendement de l'ordre de 22 % (entrée 4). Cependant, l'utilisation de la *N*-tosyl-(*L*)-valine et de la *N*-nosyl-(*L*)-valine ont permis d'obtenir un meilleur rendement en plus d'un meilleur ratio énantiomérique à hauteur de 99:1 en faveur des produits (*3R*)-**3.35a,b** (entrées 5 et 6). Un mélange 9:1 des (*3R*)-C2-bromo-diaitérisomères **3.35a/3.35b**, qui conduisent tous les deux au même intermédiaire radicalaire plus tard dans la synthèse, a été observé avec la *N*-nosyl-(*L*)-valine (entrée 6). Ces conditions optimales ont également été testées en présence des aldéhydes **3.34a** et **3.34c** dans le but d'obtenir plus de versatilité à cette voie de synthèse. Néanmoins, la réaction n'a pas fourni les produits d'aldolisation désirés à partir de l'aldéhyde **3.34a** (entrée 7) tandis que les produits majoritaires (*3R*)-**3.37a,b** ont pu être obtenus à partir de l'aldéhyde **3.34c** dans un ratio énantiomérique comparable à ceux obtenus à partir de **3.34b** (ratio (*R/S*), 92:8 ; (*3R*)-**3.37a,b**/(*3S*)-**3.38a,b**). Cependant, la réaction n'a pas été complète en 16 heures, où 41 % des produits (*3R*)-**3.37a,b** désirés ont pu être formés, l'aldéhyde de départ **3.34c** ayant été récupéré à hauteur de 50 % après traitement de la réaction (entrée 8).

Tableau 2. – Réaction d'aldolisation de Mukaiyama énantiosélective



Entrée	P	A.L. ^a (équiv.)	Temp. (°C)	Ratio ^b [(R)/(S)]	Rendement (%)
1	Bn	Ti(O <i>i</i> Pr) ₄ , (<i>S</i>)-BINOL (0.2)	-20	-	3.34a
2	TBDPS	TiCl ₄ (1)	-78	1:1	88
3	TBDPS	<i>N</i> -Ts-(<i>L</i>)-tryptophane, BH ₃ .THF (1.0)	-78	-	3.34b
4	TBDPS	<i>N</i> -Ts-(<i>L</i>)-tryptophane, BH ₃ .THF (1.0)	-40	97:3	22
5	TBDPS	<i>N</i> -Ts-(<i>L</i>)-valine, BH ₃ .THF (1.0)	-78	99:1	65
6	TBDPS	<i>N</i>-Ns-(<i>L</i>)-valine, BH₃.THF (1.0)	-78	>99:1	84
7	Bn	<i>N</i> -Ns-(<i>L</i>)-valine, BH ₃ .THF (1.0)	-78	-	3.34a
8	Bz	<i>N</i> -Ns-(<i>L</i>)-valine, BH ₃ .THF (1.0)	-78	92:8	41

^a Réactions effectuées avec 1.5 equiv. d'énolate **3.13**, en présence d'acide de Lewis pendant 16 heures. ^b Ratios déterminés par chromatographie sur fluide supercritique chirale (SFC).¹³¹

Les conditions optimales sont en gras (entrée 6).

Il est à noter que la *N*-nosyl-(*L*)-valine est récupérée par lavage acide à hauteur de 80 % lors du traitement de la réaction et qu'elle peut être réutilisée sans perte significative d'efficacité pour les réactions supplémentaires. De plus, l'optimisation de cette réaction la rend applicable à partir de l' α -alkoxy aldéhyde **3.34b** sur une échelle de 22.5 g (75.4 mmol) avec un rendement à hauteur de 84 % et une sélectivité de 9:1 en faveur des produits majoritaires (3*R*)-**3.35a,b**.

Pour mieux comprendre les sélectivités observées lors de cette réaction d'aldolisation de Mukaiyama, l'induction de la chiralité ainsi que les états de transitions à l'origine de la formation majoritaire des produits (3*R*)-**3.35a** et (3*R*)-**3.35b** sont représentés sur le Schéma 27. La chiralité est portée par la *N*-nosyl-(*L*)-valine qui, après complexation sur le borane, génère le complexe chiral **3.1**. Lors de l'ajout de l' α -alkoxy aldéhyde **3.34b**, le complexe **3.1** se chélate sur l'aldéhyde

pour former l'adduit **3.J**, induisant ainsi la stéréosélectivité observée lors de l'attaque du nucléophile. Par conséquent, l'énolate **3.13** introduit dans le milieu s'additionne sélectivement sur la face Ré via les intermédiaires **3.K** et **3.L** dont les aldols formés après traitement en conditions acides correspondent respectivement aux stéréoisomères (3*R*)-**3.35a** et (3*R*)-**3.35b**. De plus, l'encombrement stérique occasionné par le TBDPS tend à favoriser la formation de l'intermédiaire **3.K** par rapport à l'intermédiaire **3.L**, avec un ratio de diastéréoisomères de l'ordre de 9:1 en faveur du (3*R*)-C2-bromo-diastéréoisomère **3.35a**.

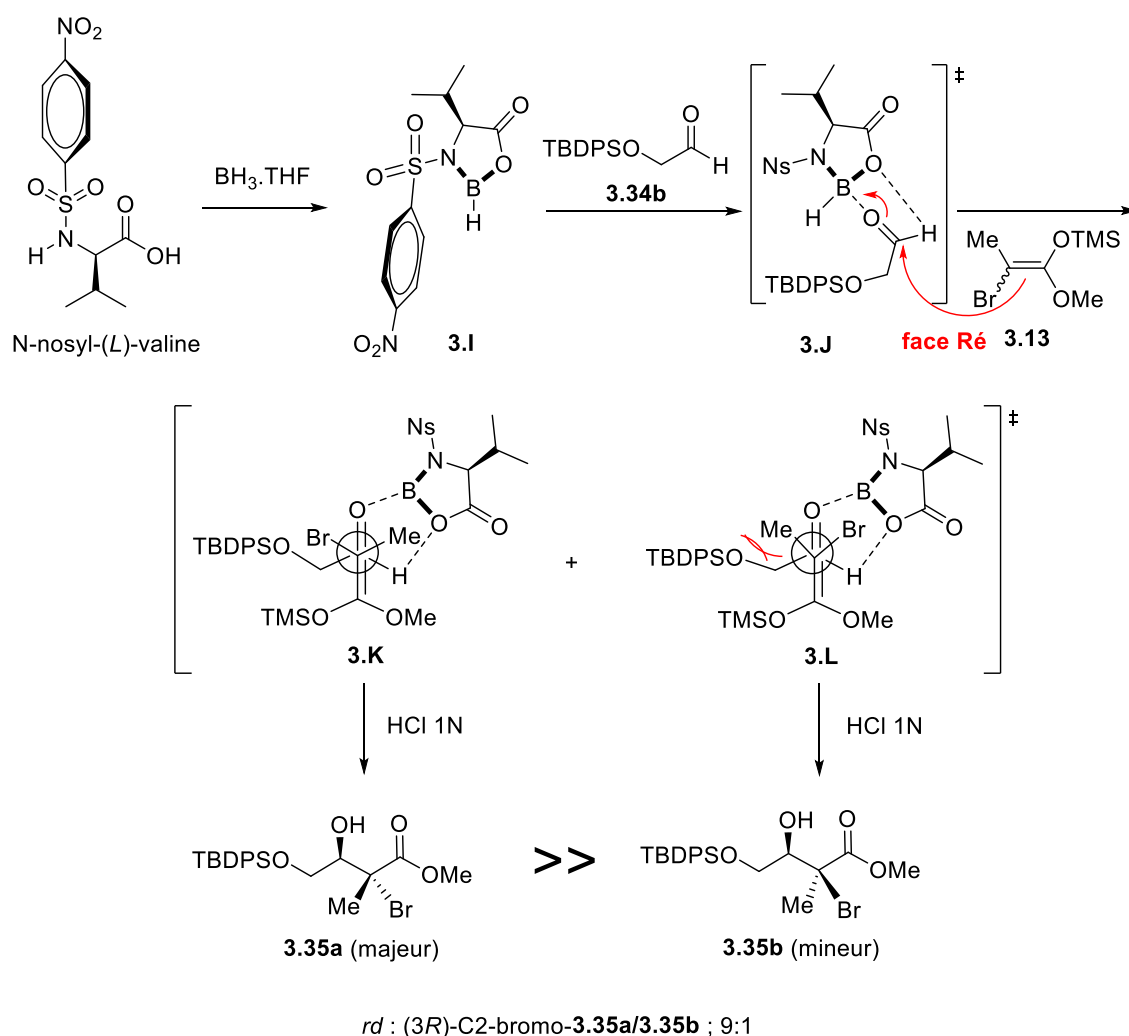


Schéma 27. – Énantiosélectivité induite lors de la réaction d'aldolisation de Mukaiyama

Finalement, cette nouvelle réaction d'aldolisation de Mukaiyama énantiosélective optimisée présente l'avantage d'être versatile et elle peut être utilisée comme point d'ancrage pour la synthèse d'une infinité d'analogues de nucléosides modifiés ciblés par notre laboratoire. Ainsi, cette voie de synthèse a été récemment appliquée sur d'autres molécules ciblées par notre groupe puis rapportée dans le cadre d'une publication.¹³¹

3.3.4 Transfert radicalaire intramoléculaire photocatalysé et formation de l'intermédiaire clé triprotégé 3.32

Les précurseurs du transfert radicalaire intramoléculaire **3.39a,b** sont ensuite préparés en installant un groupement allyldiméthylsilane sur l'alcool secondaire C3 les adduits chiraux **3.35a,b**. Comme précédemment, le transfert radicalaire de l'allyle est initié efficacement avec un photocatalyseur à l'iridium [Ir(dtbbpy)(ppy)₂PF₆] et une source lumineuse à diode électroluminescente bleue (LED bleue).¹³² La faible quantité catalytique [0.01 mol % d'Ir(III)] requise pour amorcer la cyclisation représente une amélioration significative en comparaison avec la méthode initialement utilisée nécessitant une quantité équimolaire de triéthylborane.¹²² Le traitement du mélange brut obtenu après la réaction de cyclisation par du HF-triéthylamine engendre la formation du produit 2,3-*syn* méthyl ester **3.41** avec une excellente diastéréosélectivité (>20:1) et un rendement à hauteur de 84 % (Schéma 28). La sélectivité *syn* du radical tertiaire de l'intermédiaire **3.M**, lié d'un côté par un ester et de l'autre par un centre stéréogène portant un substituant électronégatif, résulte de la minimisation à la fois des effets de tension 1,3-allylique ainsi que des effets dipolaires entre l'oxygène en C3 et l'ester.^{122,131}

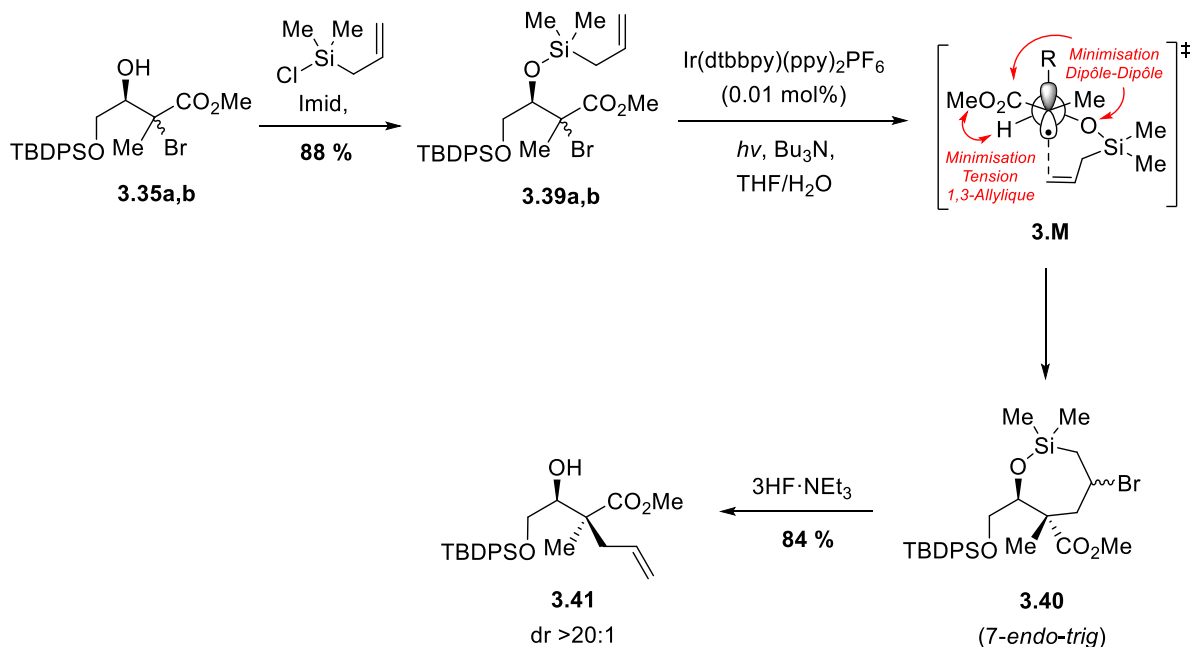


Schéma 28. – Transfert radicalaire photocatalysé et formation du centre quaternaire

L'étude du mécanisme de cette réaction intramoléculaire radicalaire a été effectuée par notre groupe selon la théorie de la fonctionnelle de la densité (*Density Functional Theory*, DFT).¹³¹ L'irradiation du complexe d'iridium [Ir(dtbbpy)(ppy)₂PF₆] en présence de la tributylamine (agent réducteur) permet d'induire un seul transfert d'électrons (*Single Electron Transfer*, SET) entre le catalyseur Ir(III) activé et le mélange d'adduits **3.39a,b**, entraînant ainsi la formation du radical tertiaire **3.39c** (Schéma 29).^{133,134} Des études expérimentales précédemment réalisées au sein de notre groupe ont démontré que ce transfert d'allyle par voie radicalaire passe par la formation d'un produit 7-endo cyclique **3.40**.¹²² De manière similaire au transfert radicalaire initié par le BEt₃, le produit cyclique à sept chaîons **3.40** est observé par RMN ¹H du mélange réactionnel brut avant l'addition d'HF-triéthylamine. À titre de comparaison, la réaction a également été réalisée avec le BEt₃, et le résultat obtenu fut similaire, les mêmes déplacements chimiques correspondant à **3.40** ayant été constatés. Par conséquent, la voie de cyclisation 7-endo privilégiée génère le produit 2,3-syn **3.41** après l'attaque nucléophile du fluor sur le silicium et l'élimination subséquente du bromure.

Pour mieux comprendre l'origine de cette sélectivité *syn* ainsi que la préférence *endo-trig* de la voie de cyclisation, une étude informatique par DFT a été entreprise par notre groupe.¹³¹

Les résultats obtenus suggèrent que les deux groupements électronégatifs se retrouvent dans une conformation gauche déstabilisatrice dans l'état intermédiaire générant le produit 2,3-*anti*, ce qui est cohérent avec le ratio de diastéréosélectivité >20:1 en faveur du produit 2,3-*syn* obtenu expérimentalement. De plus, la préférence pour la voie de cyclisation s'explique par l'atteinte plus rapide de l'état de transition du cycle 7-*endo-trig* **3.40**, qui est de 4.2 kcal/mol plus faible en énergie que l'état de transition du cycle 6-*exo-trig*. L'analyse NBO (*Natural Bond Orbital*) a quant à elle indiqué une stabilisation significative résultant de l'alignement antipériplanaire de la liaison $\sigma_{\text{Si-C4'}}$, C4' étant l'atome de carbone situé en position α du silicium, avec l'orbitale p en développement représentée sur l'intermédiaire **3.M** (Schéma 28) qui accueille le radical dans le produit cyclique à sept chaînons **3.40** ($\sigma_{\text{Si-C4'}} \rightarrow n^*_{\text{C5'}}$ = 9.0 kcal/mol). Cette interaction est généralement attribuée à l'effet β du silicium.¹³¹

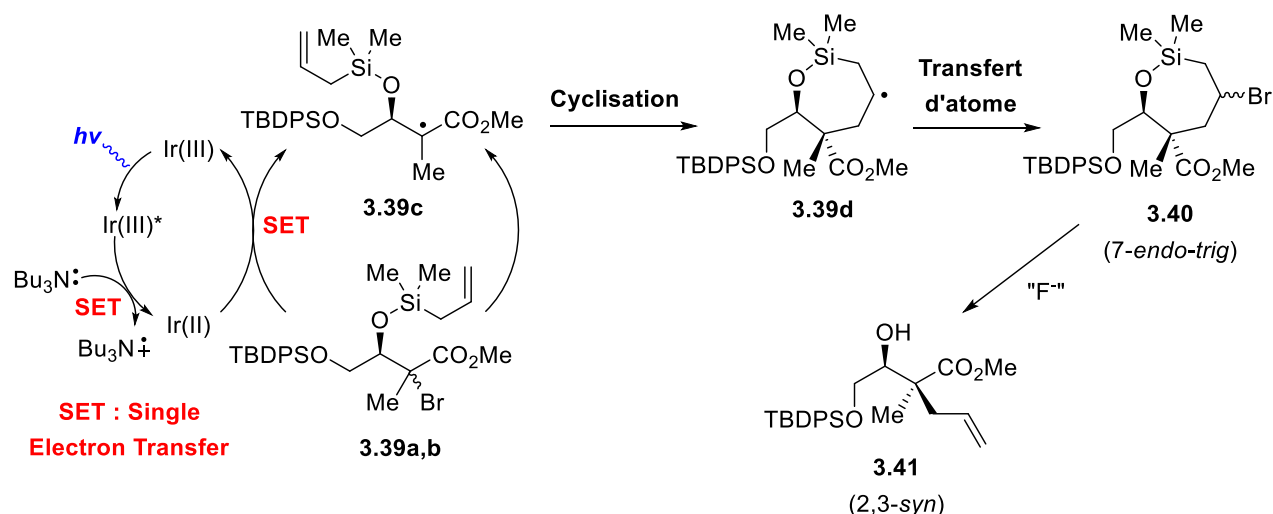


Schéma 29. – Cycle photocatalytique proposé pour générer le produit 2,3-*syn* **3.41**

L'objectif étant la synthèse de l'intermédiaire triprotégé **3.32**, l'alcool secondaire du produit 2,3-*syn* **3.41** est dans un premier temps protégé en éther silylé TES pour donner **3.42** dans un rendement de 87 % (Schéma 30). Par la suite, la réduction du méthyl ester **3.42** par l'hydrure de diisobutylaluminium (DIBAL-H) suivie de la protection sous forme de benzoate de l'alcool primaire **3.43** généré permet d'accéder à l'intermédiaire triprotégé **3.32** désiré. Dans cette voie

de synthèse améliorée, l'accès à l'intermédiaire clé **3.32** s'effectue en six étapes avec un rendement global de 52 % à partir de l' α -alkoxy aldéhyde **3.34b** contre douze étapes et un rendement global de 13 % à partir de l'aldéhyde **3.12** lors de la première voie investiguée.

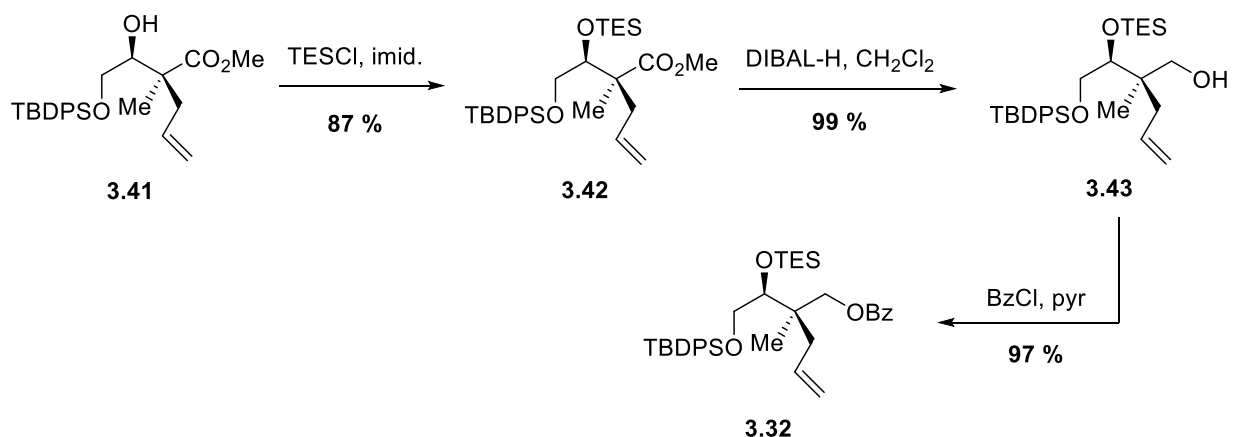


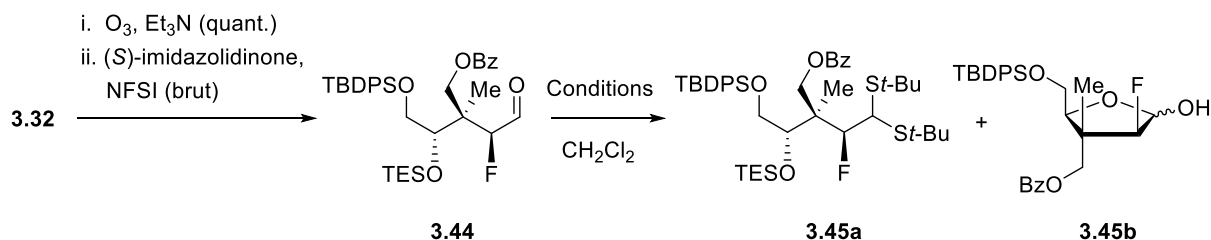
Schéma 30. – Synthèse de l'intermédiaire **3.32** par la nouvelle voie de synthèse développée

3.3.5 Tentatives de synthèse du précurseur dithioacétal **3.45a**

Afin de synthétiser sélectivement les analogues ciblés dont la configuration absolue du carbone anomérique est α , nous avons décidé d'utiliser la stratégie développée par notre groupe permettant d'introduire diastéréosélectivement la nucléobase. Tel que présenté dans le Schéma 14 du chapitre 2, cette méthode nécessite la synthèse d'un précurseur acyclique comportant un atome de fluor et un dithioacétal, qui en présence de diiode en solution, génère *in situ* un intermédiaire thiocarbenium de conformation éclipsée gauche avec le groupement polaire en C2' sur lequel la nucléobase silylée s'additionne. Cette addition se fait sur la face la moins encombrée pour générer le produit d'addition majoritaire 1',2'-*syn*.¹¹⁴ Ainsi, la synthèse débute par une première réaction d'ozonolyse de l'allyle du produit triprotégé **3.32**, suivi d'une réaction de fluoration diastéréosélective utilisant la (*S*)-imidazolidinone chirale de MacMillan¹²³ comme source de catalyseur en présence de NFSI à -20 °C pour générer l' α -fluoro aldéhyde **3.44** (Tableau 3). Ensuite, plusieurs conditions réactionnelles, décrites dans le Tableau 3, ont été tentées pour

synthétiser le dithioacétal **3.45a**. Dans les conditions initialement établies par notre groupe à base de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ et de *tert*-butylthiol à $-60\text{ }^\circ\text{C}$, le composé **3.45a** n'a pu être synthétisé après cinq heures de réaction (entrée 1). Le produit récolté correspond au lactol **3.45b** résultant du clivage du TES par le $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ suivi d'une cyclisation intramoléculaire instantanée entre l'alcool libéré et l'aldéhyde. L'expérience fut réessayée dans les mêmes conditions réactionnelles avec un temps de réaction de trois heures, le but étant de vérifier si le produit **3.45a** désiré ne se forme pas dans un premier temps avant de rapidement se dégrader (entrée 2). Or, le résultat obtenu fut identique au précédent, signifiant ainsi que le TES est instable aux conditions acides imposées par le $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ à $-60\text{ }^\circ\text{C}$. De ce fait, des investigations furent menées à $-78\text{ }^\circ\text{C}$ en faisant varier la quantité de réactifs introduits ainsi que la concentration du milieu réactionnel (entrées 3 et 4). Cependant, dans chacun des cas, l'aldéhyde de départ **3.44** n'a pas réagi après cinq heures de réaction et le lactol **3.45b** fut récolté après une heure de réaction supplémentaire à $-60\text{ }^\circ\text{C}$. Un dernier essai fut effectué en remplaçant le *tert*-butylthiol par l'éthanethiol qui est un bien meilleur nucléophile (entrée 5). Finalement, des résultats similaires aux précédents furent obtenus, et le dithioacétal à base d'éthanethiol n'a pas été formé. Bien que les dithioacétals pourraient être formés sur certains substrats possédant un C4-OTES,¹³⁵ les résultats observés révèlent que dans le cas de notre aldéhyde **3.44**, le TES n'est pas suffisamment stable en présence du $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ malgré la présence du centre quaternaire en α qui accroît sa robustesse.

Tableau 3. – Tentative de synthèse du dithioacétal 3.45a



Entrée	Conditions (équiv.)	Temp. (°C)	Temps (h)	Concentration (mol/L)	Résultats
1	BF ₃ .OEt ₂ (2.5), <i>t</i> -BuSH (4.0)	-60	5	0.1	Lactol 3.45b
2	BF ₃ .OEt ₂ (2.5), <i>t</i> -BuSH (4.0)	-60	3	0.1	Lactol 3.45b
3	BF ₃ .OEt ₂ (2.5), <i>t</i> -BuSH (4.0)	-78	5	0.1	3.44
4	BF ₃ .OEt ₂ (1.5), <i>t</i> -BuSH (2.5)	-78	5	0.2	3.44
5	BF ₃ .OEt ₂ (2.5), EtSH (4.0)	-78	5	0.1	3.44

L'incompatibilité du BF₃.OEt₂ avec le TES de notre α-fluoro aldéhyde **3.44** nous a poussé à investiguer une autre voie alternative employant un réarrangement de Pummerer (Schéma 31). La synthèse débute par la réduction de l'aldéhyde **3.44** selon les conditions de Lindsley¹³⁶ à l'aide de borohydrure de sodium (NaBH₄) afin de générer l'alcool primaire **3.46** dans un rendement de 90 %. L'installation d'un mésylate est par la suite effectuée afin de former un bon groupement partant sur le précurseur **3.47** ainsi dans un rendement de 82 %. Cependant, le déplacement du mésylate par le *tert*-butylthiol en présence de carbonate de césium n'a pas conduit à la formation du composé **3.48** désiré. Cette substitution nucléophile de type S_N2 s'effectue dans l'acétonitrile et nécessite un chauffage à reflux afin d'avoir lieu.¹³⁷ Or, à haute température, nous avons observé que le TES n'était pas stable et le lactol **3.45b** a encore une fois été généré.

Dans cette approche, les fortes conditions acides imposées précédemment par le BF₃.OEt₂ étant évitées, il serait envisageable de substituer le TES par un autre groupement protecteur tel qu'un trityle qui peut être clivé sélectivement en condition légèrement acide malgré la présence du TBDPS. La suite de cette approche envisage l'oxydation du thioéther en sulfoxyde par du MCPBA,¹³⁸ suivi d'un réarrangement de Pummerer via l'ajout d'anhydride acétique, générant

ainsi l'acétate **3.49** qui peut être utilisé pour introduire diastéréosélectivement la nucléobase lors de la formation de **3.50**. Bien que les prémisses de cette voie alternative aient été investiguées au cours de ce projet, plusieurs optimisations concernant la réaction de type S_N2 doivent être apportées afin que la suite de cette synthèse puisse être prochainement explorée.

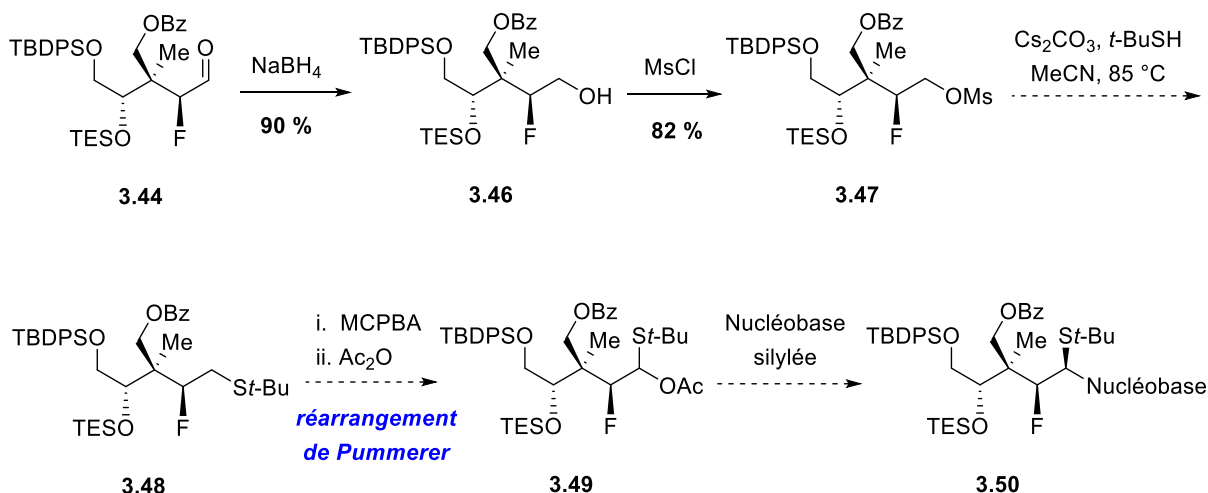


Schéma 31. – Voie alternative envisagée mettant en jeu un réarrangement de Pummerer

3.3.6 Optimisation de la nouvelle voie de synthèse

Face aux difficultés rencontrées avec le groupement protecteur TES dans les deux approches précédentes, nous avons décidé de substituer ce dernier par un TBDMS (ou TBS) plus robuste vis-à-vis des conditions acides utilisées lors de l'installation du dithioacétal. La voie de synthèse utilisée pour générer l' α -fluoro aldéhyde **3.54** est identique à celle employée précédemment, la seule différence se trouvant lors de la première étape avec la protection au TBS de l'alcool secondaire du produit 2,3-*syn* **3.41** (Schéma 32). Il est à noter que la meilleure réactivité occasionnée par le triflate a conduit à un rendement de 98 % bien supérieur à celui obtenu lors de l'installation du TES. Une fois l' α -fluoro aldéhyde **3.54** généré, les conditions décrites dans l'entrée 1 du Tableau 3 ci-dessus furent appliquées et le dithioacétal **3.55** a été

formé dans un rendement de 67 %. Aucun clivage du TBS n'a été relevé, empêchant ainsi la formation de tout autre produit secondaire indésirable tel que le lactol généré dans la méthode précédente. Toutefois, la réaction n'était pas totale après 5 heures d'agitation à -60 °C puisqu'une faible quantité de dithioacétal **3.55** a été récupérée. L'optimisation des conditions réactionnelles, décrite dans la partie expérimentale, a permis de consommer la totalité de **3.54** et ainsi d'accroître le rendement à hauteur de 85 % sur trois étapes. De même, les produits bruts issus des réactions d'ozonolyse et de fluoration diastéréosélective sont suffisamment propres après traitement pour pouvoir être réutilisés sans purification préalable dans l'étape suivante.

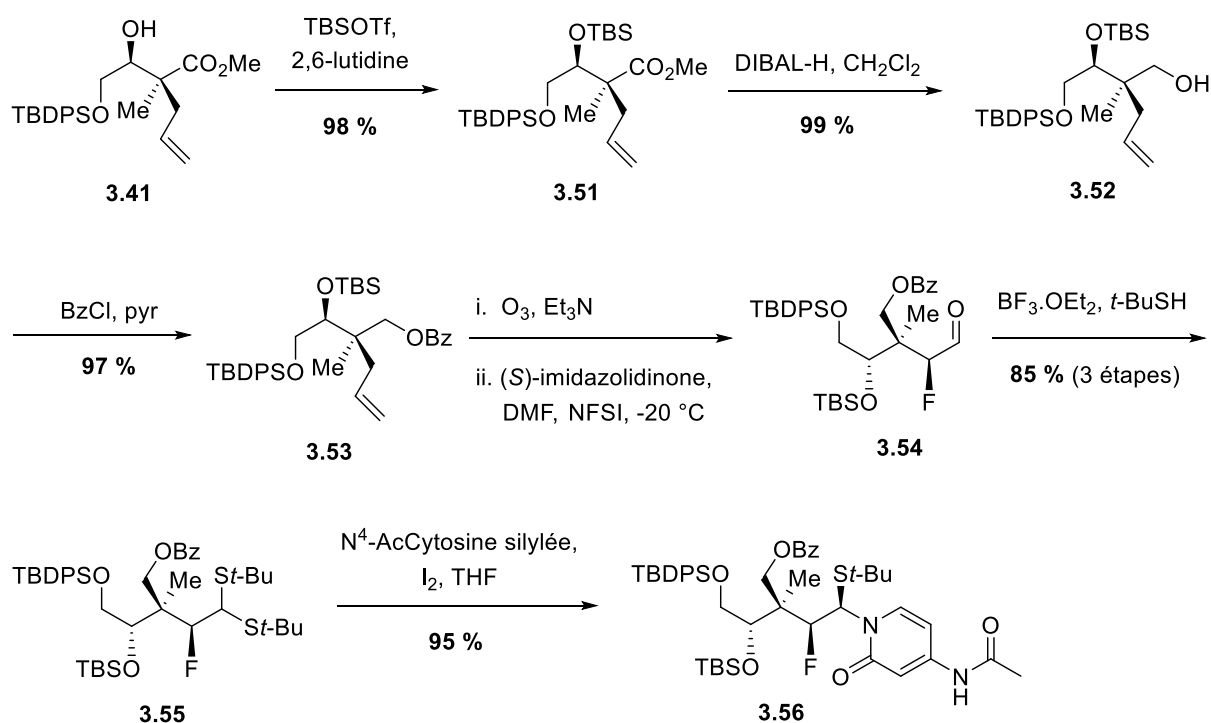


Schéma 32. – Incorporation diastéréosélective de la nucléobase

Dès lors, l'incorporation diastéréosélective de la nucléobase a pu être réalisée. De nombreux analogues synthétisés puis testés au cours de ces dernières années par notre laboratoire ont démontré de meilleures activités antivirales contre les virus HBV et HCMV lorsqu'ils comportent une cytosine. Ainsi, nous avons choisi d'incorporer la N⁴-acétylcytosine silylée sur notre analogue. Par ailleurs, la cytosine acétylée a été utilisée car les rendements

obtenus sur d'autres précurseurs dithioacétals ont été bien meilleurs en comparaison avec ceux récoltés à partir de la cytosine déprotégée qui sont de l'ordre de 50 %.³⁰ La N⁴-acétylcytosine silylée est ensuite ajoutée au dithioacétal **3.55** en solution dans le THF en présence de diiode et le produit diastéréosélectif **3.56** est généré dans un rendement de 95 % après 16 heures de réaction à température ambiante. Il est à noter que le produit peut également être réutilisé sans purification pour l'étape suivante, l'excès de nucléobase étant éliminée dans la phase aqueuse lors du lavage et l'excès de thiol par évaporation à l'évaporateur rotatif. La stéréochimie 1',2'-*syn* du produit **3.56** a été confirmée par l'analyse du produit cyclisé obtenu lors de l'étape suivante.

3.3.7 Complétion de la synthèse

L'étape suivante de cette synthèse consiste à générer sélectivement l'analogue de nucléoside de configuration anomérique α par une réaction de cyclisation intramoléculaire O4'→C1' de type « S_N2-like » où l'oxygène nucléophile déplace le thioéther activé par un agent activateur. La première idée fut d'essayer de trouver des conditions réactionnelles permettant d'induire la cyclisation intramoléculaire suivie de la déprotection du TBS *in situ* en une seule et même étape (Tableau 4). Les premiers travaux présentant une approche similaire furent réalisés par Evans et ses collaborateurs¹³⁹ en 2003 dans le but de construire stéréosélectivement des éthers cycliques à l'aide d'une éthérification en tandem à deux composants. Dans leur approche, la réaction d'éthérification intramoléculaire stéréosélective est effectuée à partir de δ -trialkylsilyloxy aldéhydes (ou cétones), de tribromure de bismuth (BiBr₃) catalytique et de divers nucléophiles trialkylsilylés afin de générer des tétrahydropyrannes *cis*- et *trans*-2,6-di et tri substitués. Ils ont démontré que le rôle du BiBr₃ est de fournir un ion bromure qui sert à cliver *in situ* le trialkylsilyle présent sur l'oxygène du cycle tétrahydropyranne formé suite à l'attaque nucléophile intramoléculaire du trialkylsilyloxy secondaire sur le carbonyle.

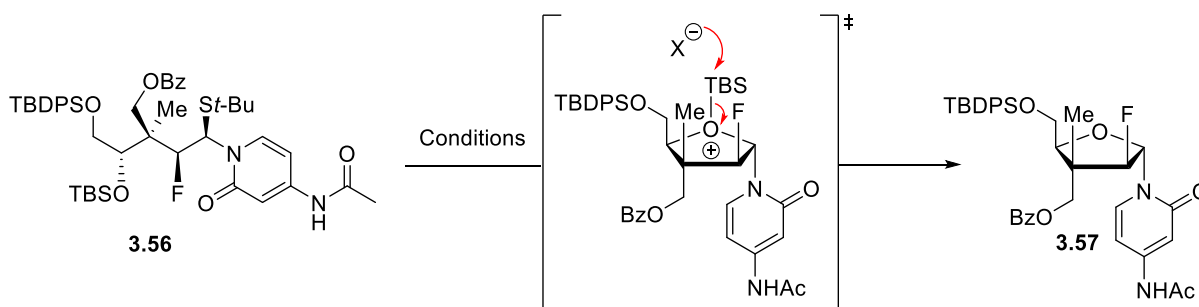
Dans le cas de notre précurseur **3.56**, il est nécessaire d'utiliser un acide de Lewis suffisamment fort pour effectuer la cyclisation intramoléculaire puis pour déprotéger *in situ* le TBS secondaire situé en position α du centre quaternaire. Le BF₃.OEt₂ pouvant être sélectif pour un TBS en présence d'un TBDPS sous certaines conditions, nous l'avons tout d'abord envisagé

dans un premier test en présence de *N*-iodosuccinimide (NIS) comme agent activateur du thioéther (entrée 1, Tableau 4). Cependant, malgré une basse température du milieu réactionnel (-40 °C), un mélange de plusieurs produits a été obtenu après deux heures de réaction dont deux ont pu être isolés. Le premier correspond à un produit de dégradation cyclique ne comportant plus de cytosine, et le second n'est autre qu'une faible quantité de précurseur de départ **3.56** qui n'a pas réagi. Le BF₃.OEt₂ est donc un acide trop fort qui dans un premier temps clive la nucléobase, engendrant ainsi la perte de la diastéréosélectivité induite précédemment. Par conséquent, diverses conditions de réactions utilisant du Me₂S(SMe)BF₄ ainsi que de l'HF-pyridine ont été testées dans divers solvants (entrées 2-4). Cependant, aucune cyclisation générant **3.57** n'a été relevée après 4 h de réaction, le produit de départ **3.56** ayant été systématiquement récupéré. En laissant sous agitation pendant 12 heures supplémentaires, le produit de départ **3.56** a une fois de plus été récupéré en présence de Me₂S(SMe)BF₄ (entrée 2) tandis qu'un mélange des produits mono- et di-silylés résultant de la déprotection à l'HF-pyridine a été observé dans les deux autres réactions (entrées 3 et 4).

La déprotection du TBS est donc nécessaire avant d'effectuer la réaction de cyclisation intramoléculaire. De plus, le TBS secondaire présent sur l'intermédiaire **3.56** possède une robustesse accrue probablement causée par la présence du centre quaternaire carboné en α . C'est pourquoi les premières investigations menées ci-dessus ont été réalisées avec un groupe C4-OTES. De ce fait, il est impossible d'élaborer des conditions de déprotection sélectives en faveur du TBS dans ce cas-ci. Ainsi, la déprotection totale des silyles a initialement été réalisée avec du HF-pyridine (entrée 1, Tableau 5). La rude compétitivité entre les deux silyles rend la réaction complète qu'après une durée de 72 heures avec un mélange 1:1 entre le diol désiré **3.58a** et le produit secondaire **3.58b** porteur d'une cytosine dépourvue d'acétate. Le suivi de la réaction par chromatographie sur couche mince (CCM) montre la formation des intermédiaires monosilylés après 16 heures de réaction, toujours en partie présent lors de l'apparition des deux produits **3.58a** et **3.58b** après 36 heures. Afin d'expliquer la formation de **3.58b**, nous avons émis l'hypothèse que la pyridine présente avec le fluorure d'hydrogène est suffisamment nucléophile pour cliver l'acétate de la cytosine après plusieurs heures de réaction. Pour vérifier cette hypothèse, un large excès d'HF-pyridine a été introduit dans les mêmes conditions que

précédemment, et le produit **3.58b** a été majoritairement formé à hauteur de 82 % après 72 heures de réaction (entrée 2). Ces observations viennent valider notre hypothèse émise quant au rôle joué par la pyridine dans ces conditions réactionnelles.

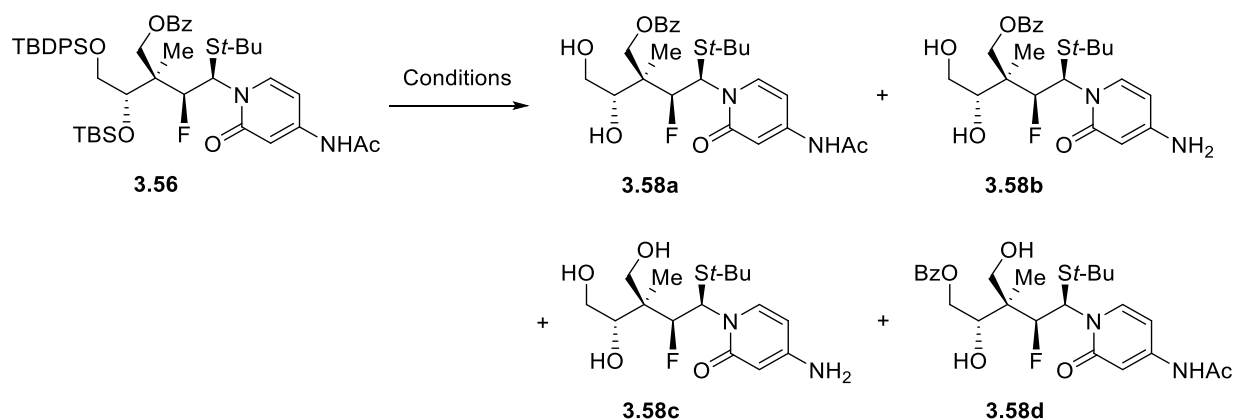
Tableau 4. – Tentative de cyclisation directe en présence d'un acide de Lewis



Entrée	Conditions (équiv.)	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Résultats
1	BF ₃ .OEt ₂ (1.3), NIS (1.5)	DCM (0.10 M)	-40	2	dégradation
2	Me ₂ S(SMe)BF ₄ (1.5)	DMSO (0.10 M)	25	16	3.56
3	Me ₂ S(SMe)BF ₄ (1.5), HF-Pyr. (2.5)	DMSO (0.10 M)	25	16	3.56 mono- et di-protégé
4	HF-Pyr. (2.5), NIS (3.0)	THF (0.10 M)	25	16	3.56 mono- et di-protégé

Pour éviter la formation du produit secondaire **3.58b**, des conditions acides mettant en jeu le *p*-TsOH ont également été envisagées (entrées 3 et 4). À température ambiante, un mélange de plusieurs produits indéterminés fut récupéré, comportant plusieurs produits mono- et disilylés dépourvus des acétates de la cytosine (clivage des acétates observés par RMN ¹H du mélange brut) ainsi que plusieurs produits de dégradation. À 50 °C, le produit totalement déprotégé **3.58c** a été identifié par RMN ¹H avec diverses impuretés indéterminées. Ces résultats suggèrent que le *p*-TsOH est un acide trop violent qui déprotège en priorité la N⁴-acétylcytosine avant de cliver aléatoirement les silyles puis le benzoate à plus haute température.

Tableau 5. – Conditions optimisées pour la déprotection des groupements silylés



Entrée	Conditions (équiv.)	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Produits (rendement)
1	HF-pyr. (5.0)	THF (0.10 M)	25	72	3.58a (35 %) + 3.58b (40 %)
2	HF-pyr. (20)	THF (0.10 M)	25	72	3.58a (12 %) + 3.58b (82 %)
3	<i>p</i> -TsOH (3.0)	MeOH (0.10 M)	25	16	mélange de produits
4	<i>p</i> -TsOH (3.0)	MeOH (0.10 M)	50	16	3.58c + impuretés
5	TBAF (5.0)	THF (0.10 M)	25	16	3.58a : 3.58d (1:1) ^a + impuretés
6	TBAF (2.2)	THF (0.10 M)	25	16	3.58a : 3.58d (1:1) ^a
7	3HF.Et₃N (5.0)	THF (0.15 M)	50	36	3.58a (90 %)

^a Ratio déterminé via l'analyse par spectroscopie RMN ¹H du produit brut. **Les conditions optimales sont en gras (entrée 7).**

Des conditions de déprotection au TBAF ont été ainsi essayées afin d'éviter la formation des produits **3.58b** et **3.58c** générés dans les réactions précédentes. Lorsqu'un large excès est introduit, la réaction est complétée après 16 heures et deux produits majoritaires sont récupérés dans un ratio d'environ 1:1 avec quelques impuretés (entrée 5). Les produits majoritaires générés correspondent au diol désiré **3.58a** ainsi que le diol **3.58d** résultant de la migration du benzoate selon un mécanisme similaire à celui proposé dans le Schéma 24. En réajustant la quantité de TBAF utilisée, le suivi de la réaction par CCM montre qu'après 6 heures de réaction, au moins cinq

produits sont présent en solution dont les produits mono-silylés issus du composé de départ **3.56**. Après 16 heures, le suivi par CCM et par spectroscopie RMN ^1H du produit brut montre que la réaction est complétée, avec seulement les produits **3.58a** et **3.58d** dans un ratio d'environ 1:1 (entrée 6). Finalement, les conditions optimales pour récupérer uniquement le produit **3.58a** désiré ont été élaborées en utilisant cinq équivalents d'HF-triéthylamine dans du THF à 50 °C dans un rendement de 90 % après 36 heures de réaction (entrée 7).

En théorie, la formation d'un cycle furanose est cinétiquement favorisée par rapport à un cycle pyranose. De ce fait, la cyclisation intramoléculaire O4'→C1' a été initiée par un ajout de NIS en tant qu'agent activateur du thioéther dans l'acétonitrile, solvant favorisant les réactions de type $\text{S}_{\text{N}}2$ (Schéma 33). Cette stratégie permet l'accès au nucléoside **3.59** de conformation anomérique α et permet de fonctionnaliser sélectivement la position C5' libre ou d'y introduire tout groupement protecteur différent d'un benzoate à cette position dans le cas où la position C3' doit être fonctionnalisée. Cependant, malgré les efforts investis dans l'optimisation de la cyclisation cinétiquement favorisée, un mélange de furanose **3.59** et de pyranose **3.60** a été systématiquement obtenu dans un ratio d'environ 1:1.

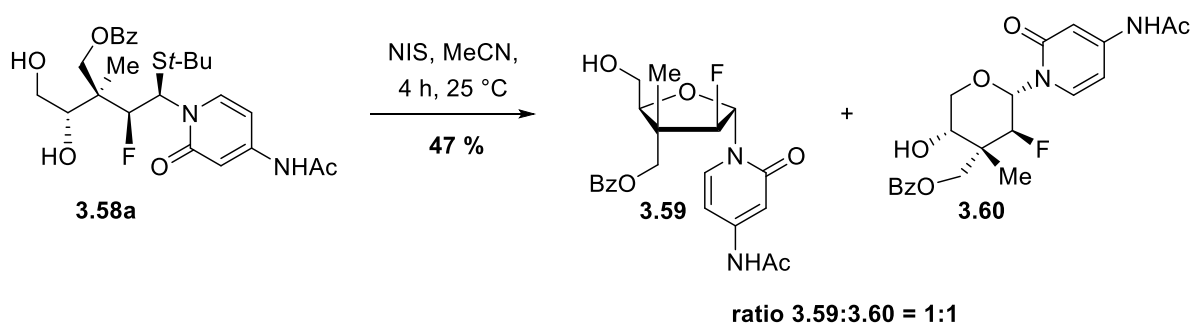
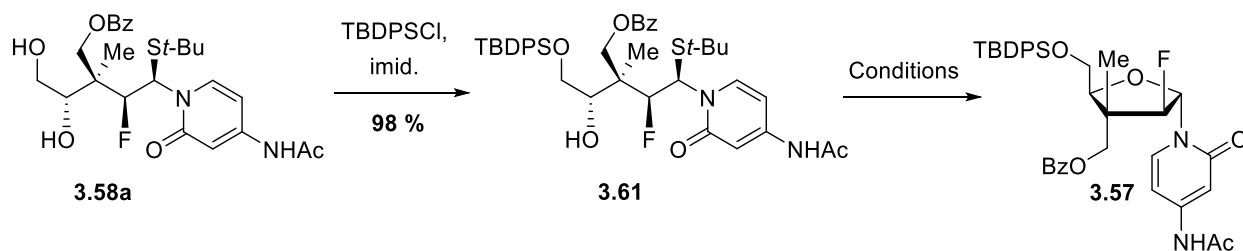


Schéma 33. – Furanose et pyranose formés suite à la cyclisation de **3.58a**

Les produits étant difficilement séparables, nous avons choisi de reprotéger sélectivement l'alcool primaire de **3.58a** avec un TBDPS pour permettre ensuite la formation sélective du furanose désiré. Ainsi, le produit **3.61** est dans un premier temps généré selon les conditions

classiques d'installation d'un TBDPS en présence d'imidazole dans un rendement de 98 % (Tableau 6). Par la suite, les tentatives de formation du produit cyclique **3.57**, précurseur du furanose **3.59** mono-déprotégé, ont été réalisées à partir de l'intermédiaire **3.61**. Durant sa thèse, la Dre Starr Dostie, associée de recherche de notre groupe, a rapporté que la cyclisation O4'→C1' s'avère plus difficile lorsqu'un précurseur acyclique comporte la cytosine plutôt que la thymine ou l'uracile.¹³⁵ Par conséquent, le Tableau 6 suivant résume les diverses conditions de cyclisation qui ont été investiguées dans le but d'optimiser et de faciliter cette réaction de type « S_N2-like » intramoléculaire.

Tableau 6. – Conditions de cyclisation de **3.61**



Entrée	Conditions (équiv.)	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Produits (rendement)
1	NIS (3.0)	DCM (0.10 M)	25	16	3.61
2	NIS (3.0)	MeCN (0.10 M)	25	4	3.57 + NIS (68 % total)
3	NIS (3.0)	DMF (0.10 M)	25	4	3.61 (traces) + dégradation
4	NIS (3.0)	DMSO (0.10 M)	25	16	3.61
5	NIS (3.0)	DMSO (0.10 M)	50	4	dégradation
6	NIS (3.0)	DCE (0.10 M)	50	4	dégradation
7	NIS (3.0)	THF (0.10 M)	50	4	3.61
8	Me ₂ S(SMe)BF ₄ (2.0)	THF (0.10 M)	25	16	3.61 N-désacétylé
9	Me ₂ S(SMe)BF ₄ (2.0)	DCM (0.10 M)	25	16	3.61
10	Me ₂ S(SMe)BF ₄ (2.0)	MeCN (0.10 M)	25	4	3.57 (traces) + impuretés

Les conditions optimales sont en gras (entrée 2).

Les conditions préalablement établies pour la cyclisation O4'→C1' des dérivés de la cytosine (NIS, DCM, 25 °C, entrée 1)¹³⁵ n'ont pas conduit au produit cyclisé souhaité, le produit de départ **3.61** étant récupéré dans sa totalité. La gêne stérique occasionnée par le TBDPS primaire peut causer une diminution de réactivité de l'oxygène O4' responsable de la cyclisation intramoléculaire, et qui peut être davantage accentuée dans les solvants apolaires habituellement non propices aux réactions de type S_N2. Cependant, l'analogue désiré **3.57** a été synthétisé lorsque la cyclisation de **3.61** a été effectuée dans l'acétonitrile en présence de NIS après quatre heures de réaction dans un rendement de 68 % (entrée 2). Il convient de préciser que ce rendement tient compte de la présence de l'excès de NIS qui n'a pu qu'être partiellement éliminé (singulet à 2.76 ppm observé en RMN ¹H). De ce fait, le produit a été réutilisé tel quel lors de la réaction suivante. De plus, une analyse par chromatographie en phase liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) a permis de confirmer la formation exclusive du produit cyclisé **3.57**. Plusieurs autres solvants ont été envisagés dans le but d'optimiser cette cyclisation. L'utilisation d'un solvant aprotique polaire tel que le DMF a rapidement favorisé la formation de divers produits de dégradation après quatre heures de réaction en ayant consommé la quasi-totalité du produit de départ **3.61** (entrée 3). Lorsque la cyclisation a été effectuée dans le DMSO, la formation de **3.57** n'a pas été favorisée à température ambiante, le produit de départ **3.61** ayant été récupéré (entrée 4). En chauffant le milieu réactionnel à 50 °C, un mélange de plusieurs produits de dégradation indéterminés ne contenant ni le produit de départ **3.61**, ni le produit cyclisé **3.57**, a été obtenu (entrée 5). Ce résultat a également été relevé lorsque la réaction a été réalisée dans le DCE (entrée 6). En revanche, l'utilisation du THF chauffé à 50 °C n'a révélé aucune activation du produit de départ **3.61**, ce dernier ayant été récupéré dans sa totalité en fin de réaction (entrée 7). Ces observations suggèrent qu'en utilisant un solvant aprotique trop polaire et/ou en chauffant le milieu réactionnel, la réaction de cyclisation intramoléculaire O4'→C1' de type « S_N2-like » est totalement défavorisée. La formation des produits de dégradation intervient rapidement et empêche la synthèse de l'analogue **3.57**.

Par la suite, les conditions généralement utilisées pour la cyclisation O4'→C1' des dérivés de la thymine ou de l'uracile (Me₂S(SMe)BF₄, 25 °C, entrée 8)^{30,135} ont également été essayées sur le produit de départ **3.61** et ont entraîné une N-désacétylation de la cytosine. Le traitement

de ce dernier dans les conditions optimales obtenues à l'entrée 2 a fourni un produit de dégradation comportant un alcène à hauteur de 38 % causée par une réaction d'élimination de l'atome de fluor. La cyclisation effectuée dans le DCM n'a pas favorisé la réaction de cyclisation souhaitée, où seul le produit de départ **3.61** n'ayant pas réagi a été récupéré (entrée 9), tandis que l'addition de $\text{Me}_2\text{S}(\text{SMe})\text{BF}_4$ dans l'acétonitrile a fourni une petite partie du produit cyclisé souhaité **3.57** (quelques traces) accompagné de plusieurs impuretés inséparables (entrée 10).

La déprotection du produit de cyclisation **3.57** à l'aide de méthanolate de sodium dans le méthanol permet l'obtention des différents analogues ciblés. Dans un premier traitement, le mélange réactionnel a été neutralisé par de l'acide formique en fin de réaction et l'analogue de nucléoside totalement déprotégé ciblé **3.05** (LCB-1185), déjà connu dans notre laboratoire,¹²⁰ a été récupéré dans un rendement de 48 %. Afin d'éviter le clivage du TBDPS causé par l'utilisation de l'acide formique, un deuxième traitement avec la résine échangeuse d'ions Amberlite® 120-IR(H) pourrait être réalisé pour neutraliser la solution basique de méthanolate de sodium, et permettre ainsi de récupérer l'analogue mono-protégé **3.62**. Malheureusement, ce dernier n'a pas pu être synthétisé selon cette approche à cause de l'épuisement du stock de matériel de départ causée par les différentes optimisations nécessaires réalisées précédemment et dont la synthèse nécessite plusieurs étapes longues. Nous avons tout de même essayé de fonctionnaliser la position C3' à partir du produit totalement déprotégé **3.05** en introduisant un triphosphate selon l'approche développée par Huang¹⁴⁰ en 2011 dans le but de former l'analogue triphosphate ciblé **3.06**. Cependant, un mélange 1:1 inséparable des dérivés phosphorylés en C3' (analogue **3.06**) et en C5' a été obtenu. Une analyse par HRMS du mélange a confirmé la formation du triphosphate **3.06**. Ainsi, il est nécessaire de conserver le groupement protecteur en C5' pour accéder sélectivement à l'analogue **3.06** qui pourrait alors être récupéré suite à la déprotection du TBDPS par du TBAF dans une réaction de type « one-pot » (Schéma 34).

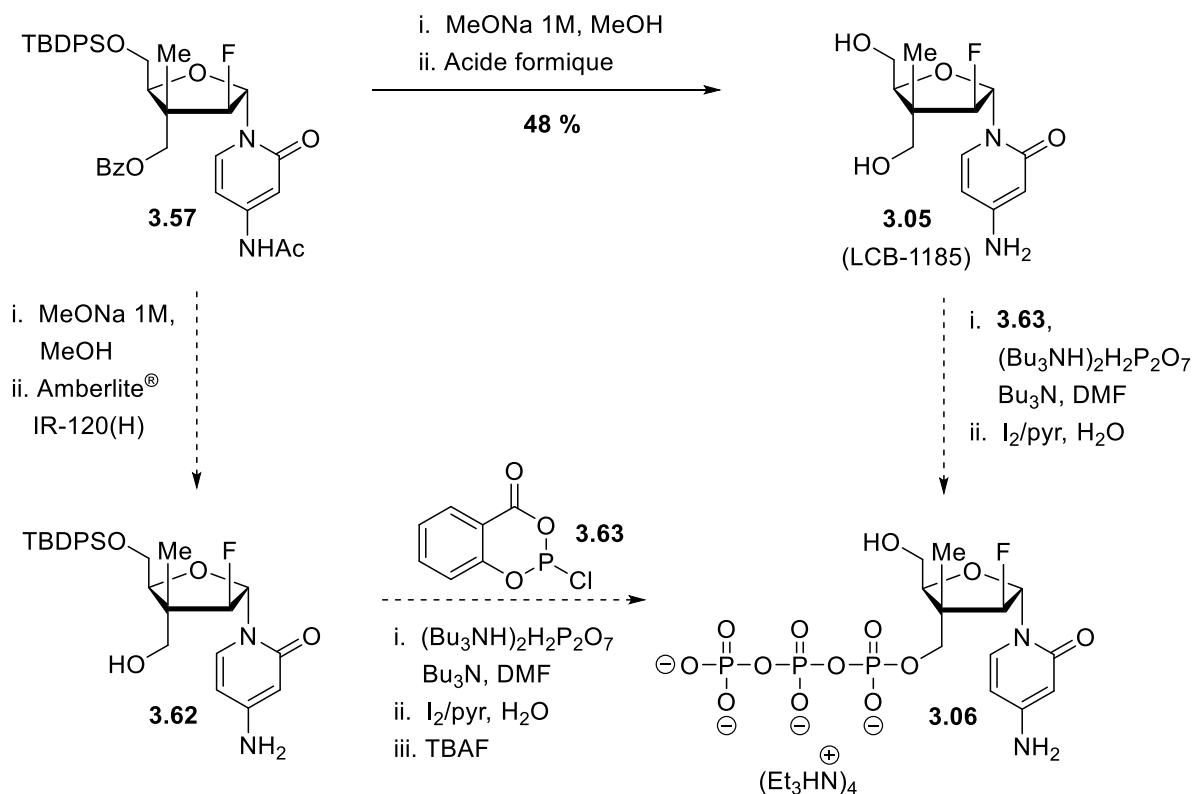


Schéma 34. – Synthèse des analogues de nucléosides ciblés

3.4 Tentative d'amélioration de la nouvelle voie de synthèse

Suite aux problèmes survenus avec l'utilisation du TES, nous avons également envisagé une modification de notre approche synthétique en parallèle des investigations menées précédemment avec le TBDMS. L'hypothèse émise concerne l'usage du méthyl ester initialement installé sur le produit **3.41** en tant que groupement protecteur et qui sera réduit en fin de synthèse pour générer l'alcool primaire à fonctionnaliser en position C3'. L'idée avancée consiste à installer un benzoate sur l'alcool secondaire qui, comme précédemment, sera clivé suite à l'incorporation de la nucléobase. L'avantage de cette stratégie réside dans la déprotection sélective du benzoate à l'aide de méthanolate de sodium MeO^-Na^+ , le méthyl ester n'étant pas affecté par ces conditions étant donné qu'il est régénéré en solution par l'attaque du MeO^- . De plus, l'amélioration apportée par cette approche permettrait de réduire le nombre d'étapes nécessaires pour avoir accès aux analogues ciblés, en ayant une synthèse totale en 15 étapes,

dont 8 sans purifications par chromatographie sur gel de silice. Par souci de clarté, la rétrosynthèse de cette voie de synthèse améliorée est présentée dans le Schéma 35 suivant.

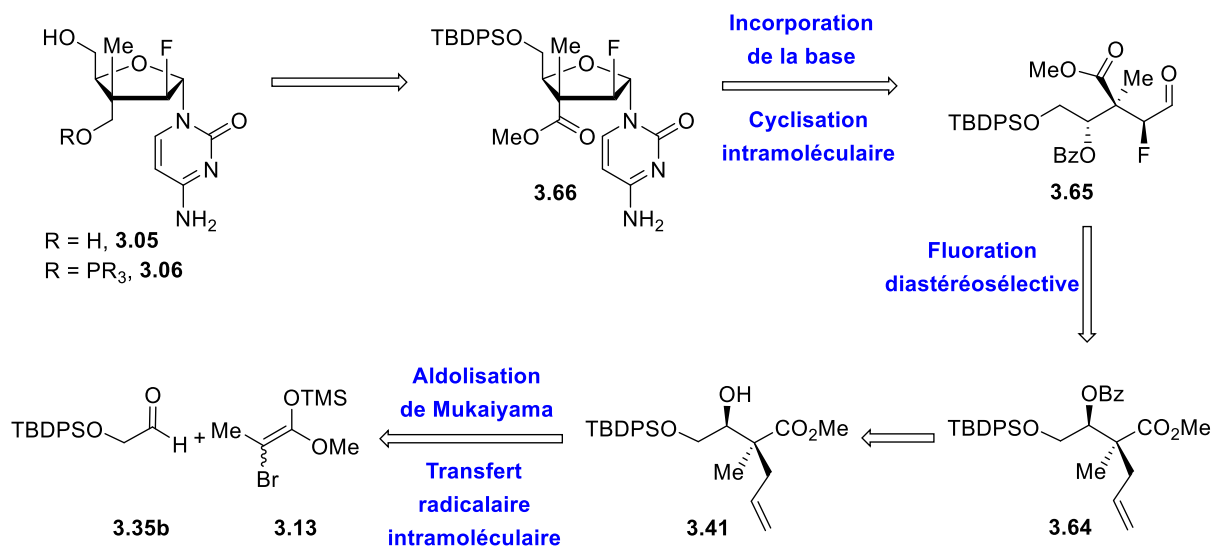


Schéma 35. – Rétrosynthèse pour la nouvelle voie de synthèse améliorée

Le début de la synthèse est similaire aux approches précédentes afin de générer le produit 2,3-*syn* méthyl ester **3.41** dont l'alcool secondaire libre est ensuite protégé par l'introduction d'un benzoate à l'aide de pyridine et de DMAP. Le produit protégé **3.64** est ainsi formé dans un rendement de 67 % (Schéma 36). Il convient de noter que le rendement de cette réaction est beaucoup plus faible que ceux obtenus lors de l'introduction d'un trialkylsilyle dans les approches précédentes, une quantité non négligeable de produit de départ **3.41** n'ayant pas réagi étant récupéré en fin de réaction. Ceci s'explique par la diminution de la réactivité de l'alcool secondaire causée par la présence du centre quaternaire carboné en α qui peut réduire sa nucléophilie. Une autre explication plausible réside dans l'encombrement stérique engendré par le TBDPS primaire et où les interactions d'empilement aromatique (π -stacking) entre les phényles du TBDPS et du benzoate peuvent ralentir l'accessibilité à ce dernier. Ainsi, malgré l'ajout de DMAP pour accélérer la réaction, ainsi que plusieurs essais réalisés à 50 °C, le meilleur rendement obtenu fut celui rapporté. Dans l'approche précédente, la formation du fort lien oxygène-silicium ($I_{(\text{Si-O})} = 95$

kcal/mol) offrait une force motrice supplémentaire à cette réaction, ce qui favorisait donc la protection de l'alcool secondaire par les groupements trialkylsilylés. La suite de la synthèse menant à la formation de **3.68** via l'introduction diastéréosélective de la N⁴-acétylcytosine sur le dithioacétal **3.67** est semblable à la voie précédente, avec des rendements comparables dans les deux cas.

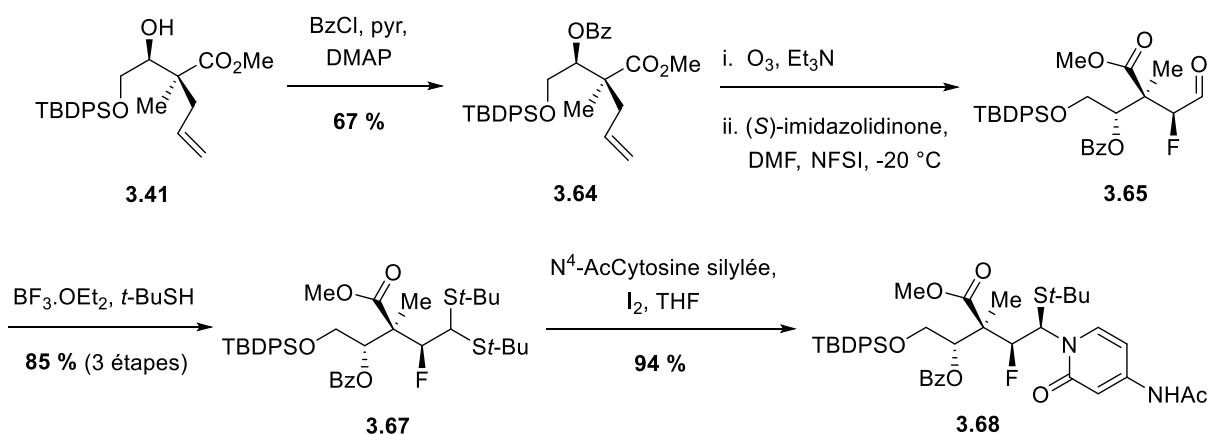
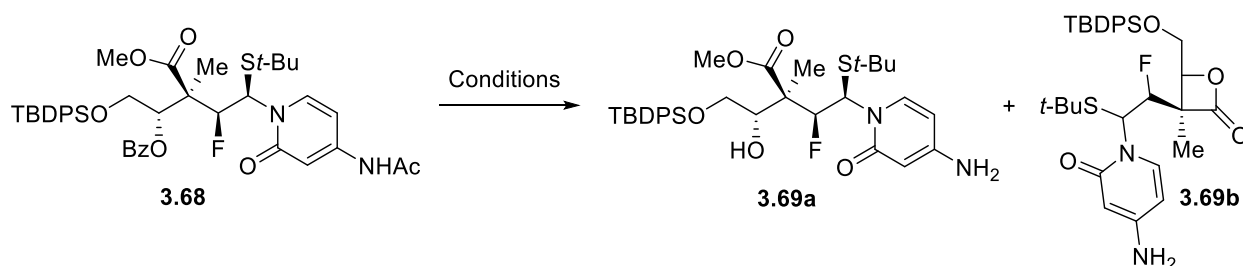


Schéma 36. – Protection au benzoate permettant l'accès à l'intermédiaire **3.68**

Dès lors, le benzoate **3.68** peut être clivé afin de générer le précurseur **3.69a** nécessaire pour accéder à l'analogue cyclisé **3.66** désiré. Or, plusieurs problèmes sont survenus lors de cette tentative de déprotection sélective et plusieurs résultats intrigants ont été relevés dans les différentes conditions réactionnelles expérimentées (Tableau 7). Un premier traitement à base de MeONa en quantité catalytique a révélé la formation d'un produit secondaire cyclique à quatre chaînons après 5 heures de réaction semblant correspondre à la lactone **3.69b** selon l'analyse du spectre RMN ¹H (entrée 1). Ce composé, qui semble être suffisamment stable pour ne pas être ré-ouvert par le MeO⁻, n'a malheureusement pas été confirmé par analyse HPLC, ceci étant certainement dû à sa décomposition dans la colonne durant l'analyse. Lorsque la réaction a été répétée dans les mêmes conditions puis laissée en solution pendant 16 heures pour vérifier si le produit **3.69b** pourrait être ré-ouvert et mener à la formation de **3.69a**, plusieurs produits de dégradation ont malheureusement été obtenus (entrée 2). Afin de mieux comprendre le

déroulement de cette réaction, l'ajout d'une quantité équimolaire de MeONa a révélé que la déprotection de la cytosine intervient dans un premier temps après deux heures de réaction (entrée 3), suivie de la formation de la lactone **3.69b** qui se dégrade rapidement en solution après 16 heures d'agitation (entrée 4).

Tableau 7. – Tentative de déprotection du benzoate secondaire



Entrée	Conditions (équiv.)	Solvant	Temp. (°C)	Temps (h)	Produits (rendement)
1	MeONa 1M (0.2) ^a	MeOH (0.10 M)	25	5	3.68 + 3.69b^b
2	MeONa 1M (0.2) ^a	MeOH (0.10 M)	25	16	3.69b^b (traces) + dégradation
3	MeONa 1M (1.1) ^a	MeOH (0.10 M)	25	2	3.68 + 3.68 désacétylé
4	MeONa 1M (1.1) ^a	MeOH (0.10 M)	25	16	3.69b^b (traces) + dégradation
5	K ₂ CO ₃ (0.5) ^a	MeOH (0.10 M)	25	16	3.69b^b + impuretés
6	K ₂ CO ₃ (2.0) ^a	MeOH (0.10 M)	25	2	3.68 désacétylé
7	K ₂ CO ₃ (2.0) ^a	MeOH (0.10 M)	25	16	3.69b^b + impuretés
8	LiBH ₄ (3.0)	Et ₂ O (0.10 M)	25	3	mélange indéterminé
9	LiBH ₄ (1.2)	THF (0.30 M)	-40	4	3.68
10	LiBH ₄ (5.0)	THF (0.15 M)	25	16	3.68 + impuretés
11	DIBAL-H (2.5)	DCM (0.20 M)	-40	3.5	3.68 + impuretés (traces)
12	DIBAL-H (2.5)	DCM (0.20 M)	0	16	mélange indéterminé

^a Réactions neutralisées avec de l'Amberlite® IR-120(H). ^b Produit déterminé selon l'analyse par spectroscopie RMN ¹H mais non observé en HPLC.

Des conditions plus douces employant une quantité catalytique de bicarbonate de potassium K_2CO_3 ont également été envisagées (entrée 5). Malgré que le K_2CO_3 soit moins fort que le MeONa, les résultats observés ont été similaires et quelques traces de la lactone **3.69b** ont été aperçues aux côtés de plusieurs impuretés. Le suivi de la réaction traitée par un excès de K_2CO_3 a appuyé les résultats préliminaires relevées avec le méthanolate de sodium (entrées 6 et 7) et ainsi confirmé le cheminement réactionnel que nous avons établi à travers ces observations. Ceci suggère que les conditions de déprotection en milieu basique ne sont pas compatibles avec notre produit de départ **3.68**, le produit **3.69a** désiré n'ayant jamais été formé dans ces conditions. La formation de la lactone secondaire **3.69b** semble être favorisée et suffisamment stable malgré la tension de cycle pour ne pas être convertie en produit **3.69a**.

Un autre moyen pour déprotéger un benzoate est une réduction de celui-ci par un agent réducteur afin de générer l'alcool correspondant. Cependant, l'intermédiaire **3.68** comporte également un méthyl ester qui pourrait être lui aussi réduit. La robustesse accrue imposée par le centre quaternaire sur lequel est directement lié l'ester nous a poussé à croire que le benzoate serait réduit en premier en présence d'un agent réducteur doux. Ainsi, les premiers essais ont été portés sur l'utilisation du $LiBH_4$ dans diverses conditions réactionnelles. Un traitement dans le diéthyléther a rapidement mené à la formation d'un mélange de produits indéterminés (entrée 8). En revanche, dans le THF, à basse température, la réduction du benzoate n'a pas été favorisée, le produit de départ **3.68** ayant été récolté (entrée 9). À température ambiante, cette même réaction n'a pas été complétée après 16 heures d'agitation, et plusieurs impuretés ont fait leur apparition (entrée 10). Le $LiBH_4$ n'étant pas assez fort, le choix du DIBAL-H a été envisagé à basse température. Dans ce cas-ci, les impuretés ont commencé à apparaître après 4 heures de réaction à -40 °C (entrée 11) tandis qu'un mélange de plusieurs produits de dégradation indéterminés a été obtenu après 16 heures d'agitation à 0 °C (entrée 12). Grâce à l'analyse par RMN 1H des divers produits bruts de dégradation formés, nous avons pu relever que la cytosine a été dégradée par le DIBAL-H, suggérant donc qu'un agent réducteur trop fort n'est pas compatible avec le produit de départ **3.68** pour synthétiser le produit **3.69a** désiré.

Pour contourner la difficulté rencontrée lors de la réduction du benzoate, il serait intéressant de le substituer par un acétate beaucoup moins robuste et d'essayer les conditions

de réduction douce au LiBH_4 de l'entrée 9, le méthyl ester et la cytosine n'étant pas affectés dans ces conditions. D'autres groupements protecteurs pourraient également être envisagés tels que le 4-méthoxybenzyl éther (PMB) et le carboxybenzyle (Cbz). L'avantage du PMB réside dans sa déprotection sélective par un clivage oxydatif selon un mécanisme radicalaire initié par la 2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone (DDQ) tandis que le Cbz peut être déprotégé sélectivement par hydrogénation avec une source de palladium. L'utilisation d'un de ces deux groupements protecteurs pourrait permettre de générer efficacement le dérivé **3.69a** désiré. Cependant, il convient de relever le problème de compatibilité du PMB avec la réaction d'ozonolyse de l'alcène, qui pourrait être contourné par une réaction d'oxydation à l'osmium OsO_4 suivie d'un clivage oxydatif du diol par du périodate de sodium NaIO_4 . Ces différentes propositions n'ont malheureusement pas pu être testées au cours de ce projet, et elles feront prochainement l'objet d'études plus approfondies.

3.5 Comparaison globale des différentes voies de synthèse

À ce stade, il est intéressant de comparer l'approche que nous avons développée au cours de ce projet avec les différentes voies de synthèse déjà connues au sein de notre groupe pour accéder aux ANs portant un atome de fluor en position C2'. L'accès à l'analogue **3.05** s'effectue plus efficacement et plus facilement à partir de l' α -alkoxy aldéhyde **3.35b** (Schéma 37). Le principal avantage de cette approche acyclique est que seul l'anomère α est généré, évitant ainsi sa formation via la glycosylation sur le lactol qui favorise la formation de l'anomère β et dont la séparation des deux anomères est difficile. De plus, bien que notre nouvelle approche nécessite plus d'étapes que la route initiale partant de la butyrolactone **3.07**, elle offre un meilleur rendement global (13 % sur 14 étapes contre 8 % sur 10 étapes) ainsi que la possibilité d'effectuer les étapes initiales de la synthèse sur des échelles de l'ordre de 100 mmol. La comparaison avec l'approche de seconde génération qui débute par le 2,3-isopropylidène-*D*-glycéraldéhyde **3.12** démontre plusieurs similitudes (rendement global de 11 % en 14 étapes, échelle de plus de 500 mmol). Cependant, en plus de contourner l'étape de glycosylation sur le lactol et de former sélectivement l'anomère α **3.05**, cette approche permet d'esquiver le clivage oxydatif causant la

perte du centre stéréogène en C4. L'autre intérêt de cette approche différenciée que nous avons développée réside dans l'introduction sélective, rendue possible, d'un groupement fonctionnalisé sur la position C3' en fin de synthèse. Bien que la réaction ne soit pas optimale, l'analogue triphosphate **3.06** a pu être formé à partir du produit mono-protégé **3.62**, ce dernier pouvant être sélectivement généré selon cette approche tel que décrit sur le Schéma 34.

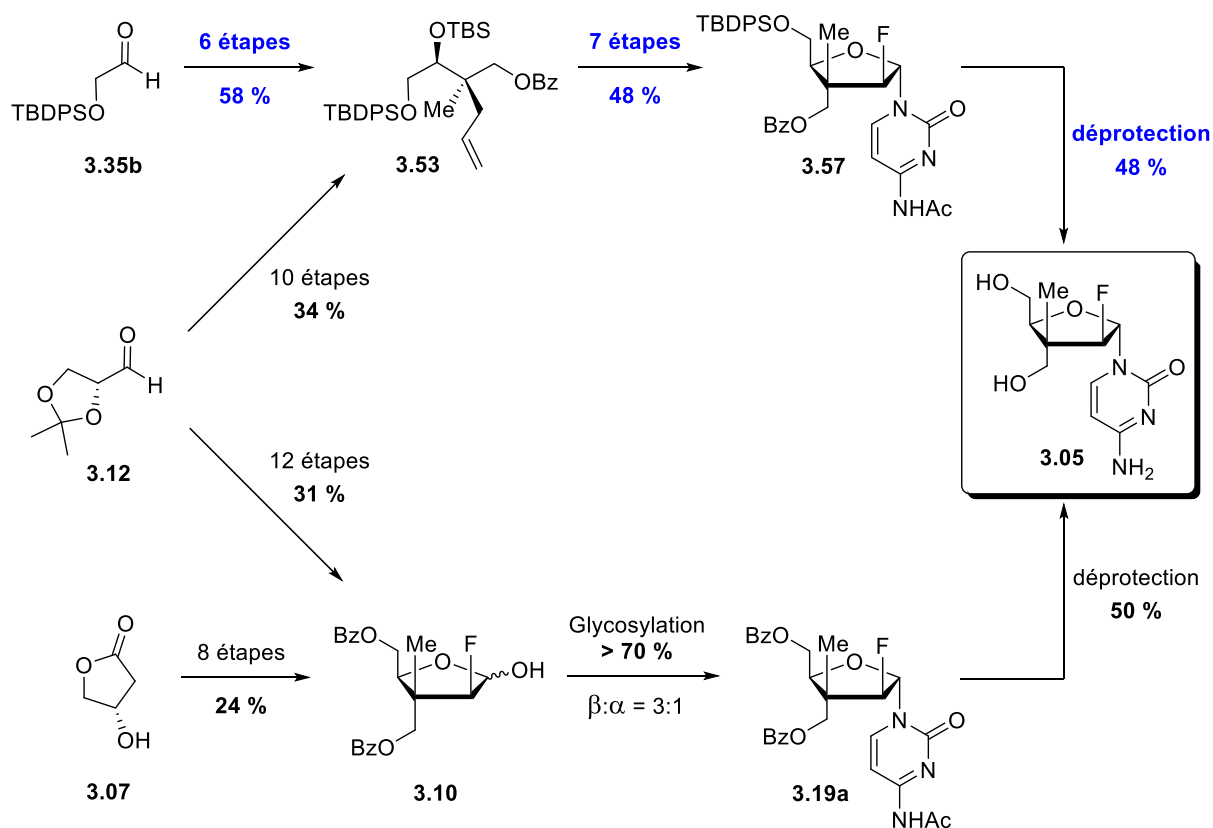


Schéma 37. – Comparaison des approches permettant d'accéder à l'analogue **3.05**

3.6 Conclusion

Au cours de ce chapitre, une stratégie acyclique de synthèse permettant d'accéder sélectivement aux analogues de nucléosides de type *arabino* (C1'- α) portant un atome de fluor en position C2' a été élaborée. Cette approche permet de fonctionnaliser efficacement et sélectivement les analogues en toute fin de synthèse grâce à l'utilisation de groupements protecteurs orthogonaux. Elle permet également de contourner la réaction de glycosylation non sélective pour l'anomère α et dont la purification est généralement complexe. Cependant, de nombreux imprévus ont été rencontrés durant le développement de cette synthèse et plusieurs investigations ont été nécessaires afin d'élaborer des conditions optimales pour chacune des étapes. Ainsi, il a été possible de synthétiser l'analogue **3.05** (LCB-1185) déjà connu dans notre groupe, afin d'avoir un moyen de comparaison entre les différentes stratégies élaborées. LCB-1185 a également été soumis à une série de tests contre divers virus et il a éprouvé une bonne activité biologique contre le virus de l'hépatite B (HBV). En revanche, les stocks de produits intermédiaires ayant été consommés dans leur totalité à cause des différentes investigations menées et la préparation de ceux-ci nécessitant plusieurs étapes, il n'a malheureusement pas été possible de synthétiser le produit **3.62** permettant d'investiguer davantage la formation des dérivés triphosphate et phosphoramidate **3.06** également visés. Finalement, il serait intéressant d'étudier la versatilité de cette voie de synthèse qui pourrait servir de stratégie générale pour l'accès à tous les analogues de nucléosides portant un centre quaternaire à la position C3'. Une application de cette approche est notamment présentée au cours du chapitre suivant pour la synthèse d'une nouvelle famille d'analogues C2'-désoxy.

Chapitre 4 – Synthèse d'analogues de nucléosides C2'-désoxy portant un centre quaternaire en position C3'

4.1 Mise en contexte

L'accès rapide et efficace aux ANs modifiés selon la nouvelle approche différenciée nous a motivé à poursuivre nos efforts dans le développement de nouveaux analogues. Cette nouvelle méthode générale a donc été appliquée pour la synthèse d'analogues de nucléosides C2'-désoxy portant un centre quaternaire à la position C3'. Les premiers analogues ciblés correspondent aux anomères modifiés β **4.01** et α **4.02** de la 2'-désoxycytidine qui est, sous sa forme phosphorylée, un des monomères constituant l'ADN (Schéma 38).

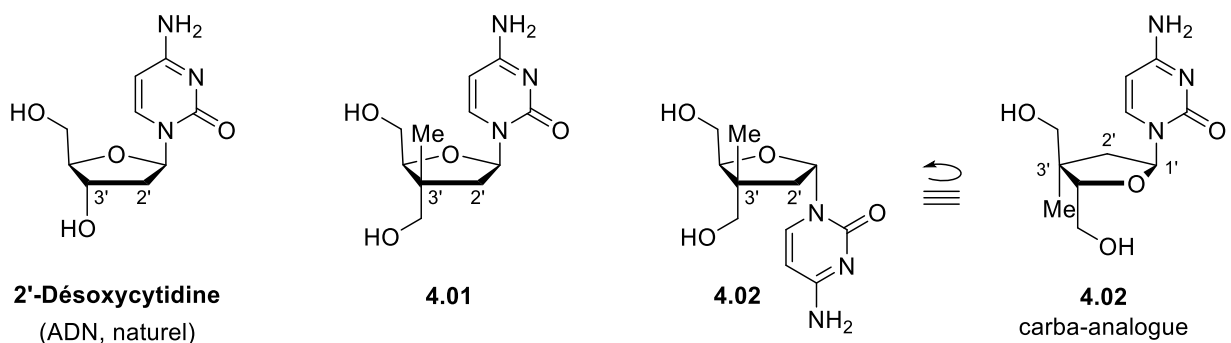


Schéma 38. – Synthèse d'ANs C2'-désoxy portant un centre quaternaire en C3'

Ces dérivés ont l'avantage de présenter plus de similitudes avec leurs homologues endogènes que les analogues substitués en position C2'. Cette ressemblance pourrait leur permettre de mieux rivaliser avec les nucléosides naturels en milieu biologique et ainsi d'en faire d'excellents potentiels inhibiteurs lors de la prolifération cellulaire de l'agent infectieux. Plusieurs analogues C2'-désoxy sont notamment utilisés dans le traitement de nombreuses tumeurs, dont parmi eux la Décitabine (Dacogen[®]), la Zalcitabine (Hivid[®]) et l'Entécavir (Baraclude[®]) discutés au cours du chapitre 2.

Deux autres exemples de préparation de furanose C2'-désoxy possédant un centre quaternaire en position C4' ont été rapportés dans la littérature. À partir du 1,2:5,6-Di-O-isopropylidène- α -D-glucofuranose, le groupe de Samuelsson a préparé le furanose **4.11a,b** en générant le centre quaternaire en position C4' via une réduction de Cannizzaro in situ.¹⁴¹ Les analogues **4.13a,b** et **4.16a,b** ont ainsi pu être synthétisés suite à une réaction de glycosylation activée par le TBSOTf suivie de la déprotection totale des groupes protecteurs (Schéma 40).

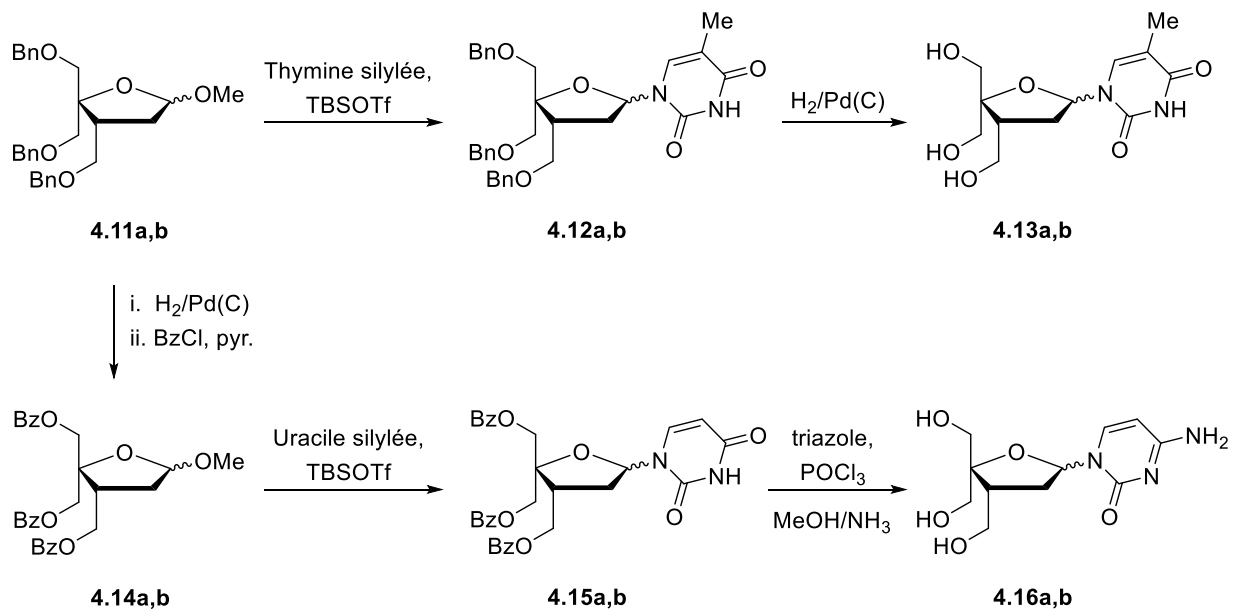


Schéma 40. – Synthèse de furanose C2'-désoxy portant un centre quaternaire en C4' ¹⁴¹

Le groupe de Lee-Ruff a pour sa part utilisé une approche photochimique permettant de synthétiser des ribosides supportés par des polymères **4.18** à partir de l'irradiation de cyclobutanones **4.17** en présence de polyéthylène glycol (PEG).¹⁴² Ces photo-adduits peuvent être clivés du polymère selon les conditions de couplage de Vorbrüggen^{88,89} à base de pyrimidines silylées pour donner les ribonucléosides **4.21a,b** portant un gem-diméthyle en C3' (Schéma 41).

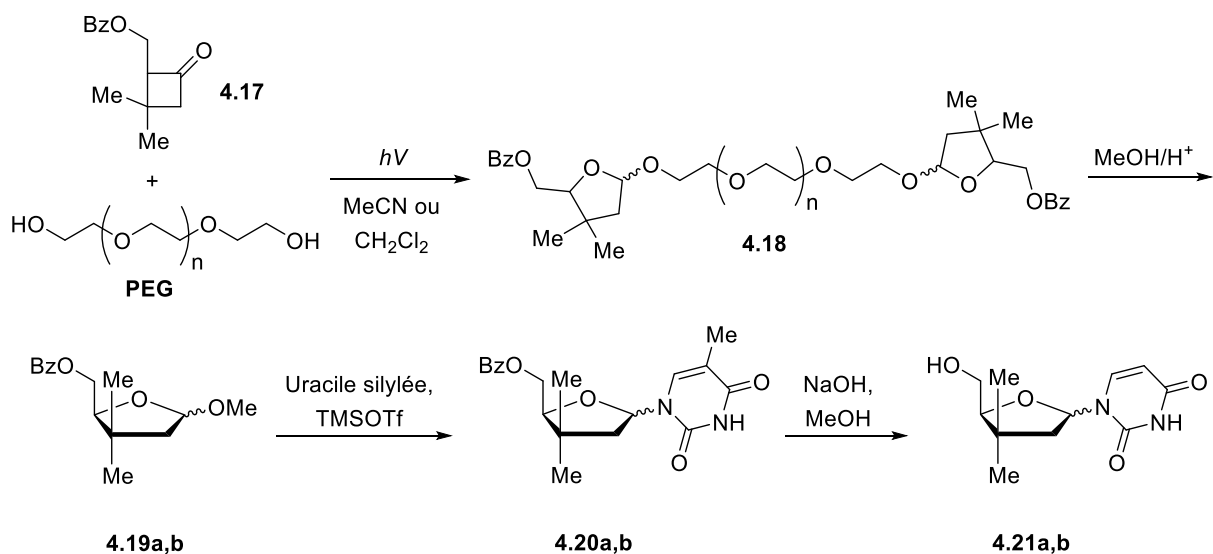


Schéma 41. – Synthèse de furanose C2'-désoxy portant un gem-diméthyle en C3' ¹⁴²

Bien que ces exemples soient intéressants, les faibles diastéréosélectivités ainsi que les séparations complexes en fin de synthèse rendent ces analogues difficiles à atteindre. Leur synthèse représente un défi de taille que nous nous sommes proposé d'investiguer à partir des intermédiaires avancés obtenus lors du développement de la nouvelle approche précédente.

4.2 Synthèse des nouveaux analogues de nucléosides C2'-désoxy désirés

En utilisant la même voie de synthèse que dans la section 3.3.3 précédente, l'adduit **3.34** est obtenu à partir de la protection au TES de l'alcool secondaire présent sur le produit 2,3-*syn* **3.33**. L'ozonolyse de l'allyle **3.34** permet ensuite de former l'aldéhyde **4.22** dont le produit brut est immédiatement traité par une quantité catalytique de $\text{TsOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (0.5 équiv.) dans le méthanol pour générer le précurseur de glycosylation **4.23a,b** dans un rendement de 91 % sur deux étapes (Schéma 42). Il convient de rappeler que ces conditions de déprotection, élaborées au cours de ce projet, sont sélectives pour cliver le TES secondaire en présence du TBDPS primaire comme mentionné dans le chapitre précédent. Ensuite, le premier choix fut de conserver l'ester puis

d'essayer d'élaborer des conditions de réduction sélectives. Ainsi, la réaction de glycosylation a été effectuée à partir de la N⁴-acétylcytosine silylée et du précurseur **4.23a,b** activé par du TMSOTf à 0 °C pour générer les produits **4.24a,b** dans un rapport diastéréoisomérique (*rd*) de 1.4:1 en faveur de l'anomère β. Il convient de préciser que tous les ratios de stéréosélectivités α/β (*rd*) de ce manuscrit furent établis selon l'analyse par RMN ¹H du brut réactionnel avec un temps de relaxation de 10 secondes (*d*₀ = 10 s). Les premiers essais de réduction sélective de l'ester ont débuté par l'utilisation du LiBH₄ dans du diéthylique à 0 °C. Dans ces conditions, la formation des anomères α **4.25a** et β **4.25b** n'a pas été favorisée, le matériel de départ ayant été récupéré dans sa totalité. Cet ester directement lié sur le centre quaternaire possède une robustesse conséquente qui nécessite un agent réducteur fort. Ainsi, nous avons employé les conditions habituellement utilisées avec l'ajout de DIBAL-H (2.5 équiv.) dans le dichlorométhane à -40 °C et un mélange de plusieurs produits de dégradation indéterminés a été récupéré. L'analyse par RMN ¹H du brut n'a révélé aucun signal correspondant à la cytosine, témoignant ainsi de son clivage par le DIBAL-H.

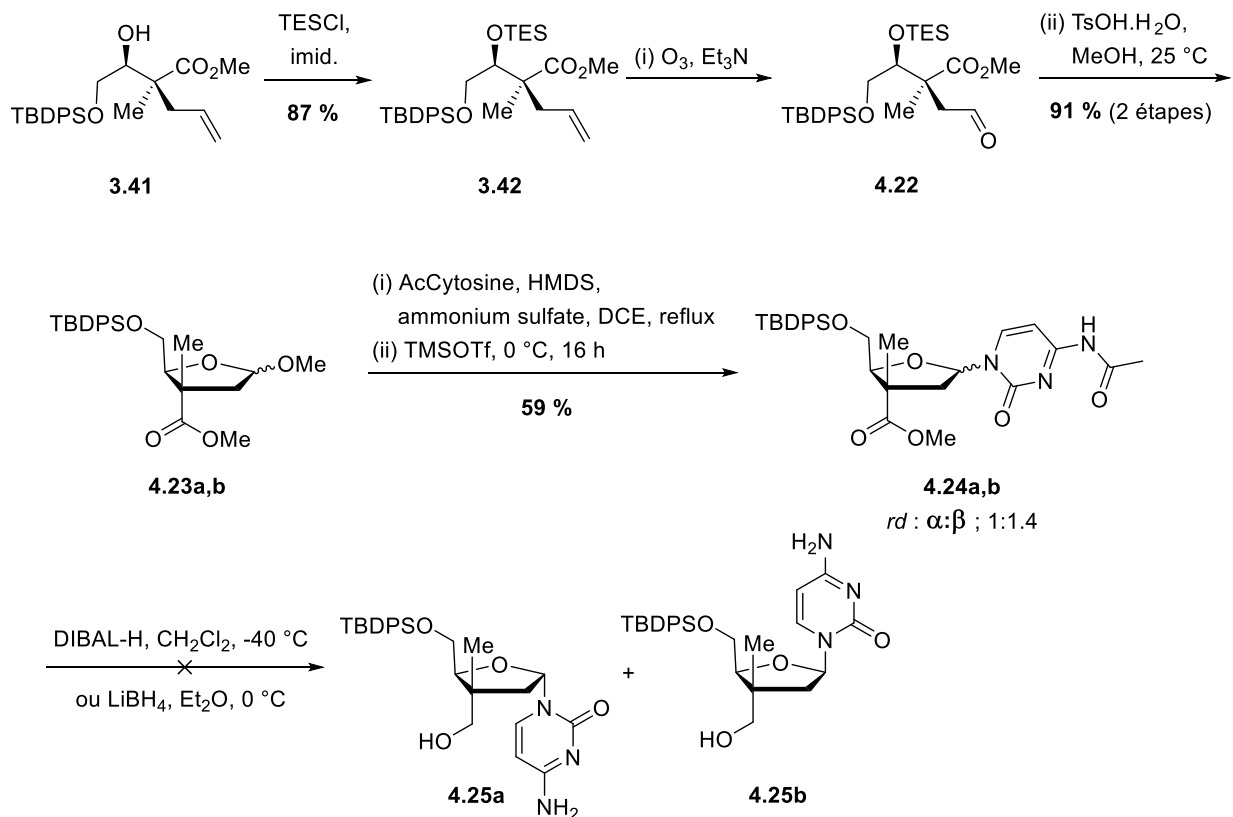


Schéma 42. – Première tentative de synthèse d'ANs C2'-désoxy

Pour contourner cette dégradation de la cytosine, nous avons donc décidé de réduire l'ester de **4.23a,b** avant la glycosylation. L'ajout de DIBAL-H permet de former l'intermédiaire **4.26a,b** qui, suite à l'introduction d'un benzoate pour protéger l'alcool primaire, génère le précurseur de glycosylation **4.27a,b** dans un rendement de 82 % sur deux étapes (Schéma 43). Comme précédemment, l'introduction de la cytosine acétylée est effectuée selon les mêmes conditions afin de donner les produits de glycosylation **4.28a,b** dans un rendement de 73 % avec une faible sélectivité en faveur de l'anomère β (rd : 1.2:1). Finalement, les deux anomères α/β ont pu être facilement séparés suite à la déprotection des groupements protecteurs ester (acétate et benzoate) par du méthanolate de sodium. L'anomère α **4.25a** est obtenu dans un rendement de 37 % tandis que l'anomère β **4.25b** est récupéré à hauteur de 53 %.

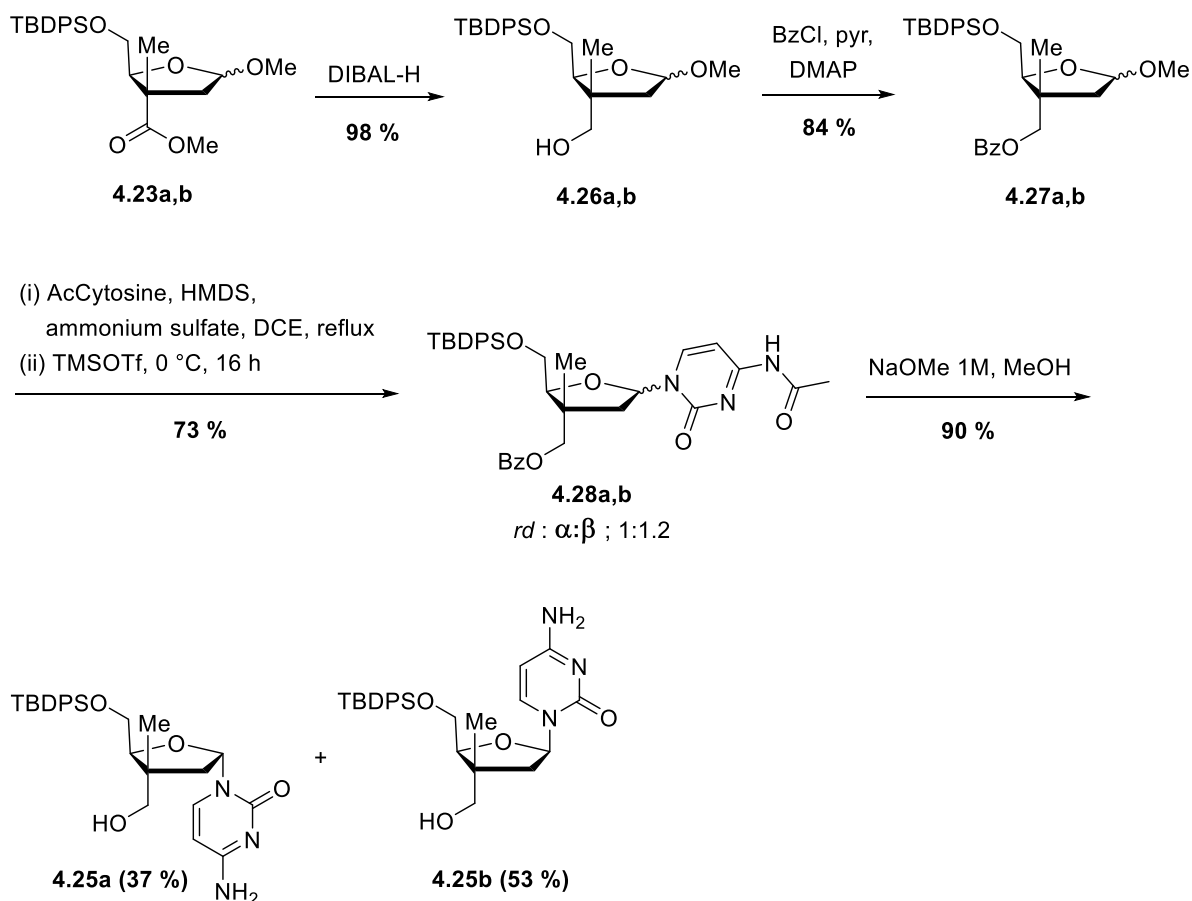


Schéma 43. – Synthèse des anomères mono-protégés **4.25a** et **4.25b**

La déprotection du trialkylsilyle de l'anomère β **4.25b** en présence d'HF-triéthylamine permet de générer le premier analogue C2'-désoxy ciblé **4.01** (LCB-2315) dans un rendement de 92 % (Schéma 44). De même, la déprotection du TBDPS de l'anomère α **4.25a** par l'HF-triéthylamine donne le second analogue C2'-désoxy modifié **4.02** (LCB-2323) désiré dans un rendement de 81 %.

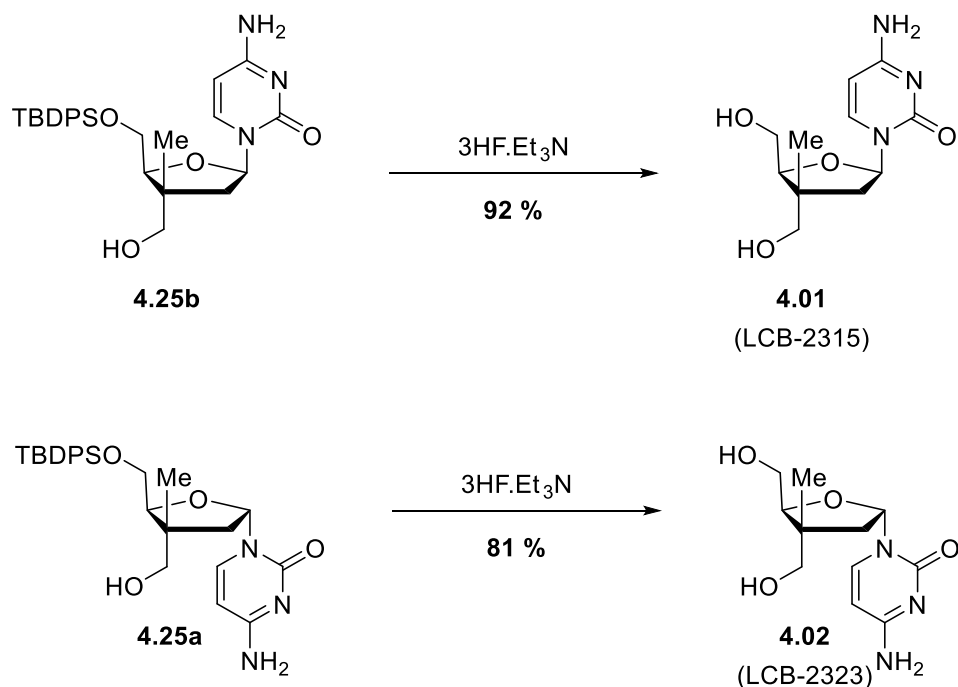


Schéma 44. – Synthèse des analogues **4.01** et **4.02** désirés

Les analogues C2'-désoxy **4.01** et **4.02** ayant été synthétisés, nous avons ensuite investigué sur l'élaboration de conditions pouvant favoriser la stéréosélectivité en faveur de l'un des deux anomères lors de l'incorporation de la cytosine pendant l'étape de *N*-glycosylation.

4.3 Contrôle stéréosélectif induit lors de la *N*-glycosylation

Les prémisses de notre étude ont été établies à partir des travaux préalablement réalisés par les groupes de Zhang¹⁴³ en 2010 et d'Oivanen¹⁴⁴ en 2015. Les analogues désoxy ne possédant aucun groupement directeur en position C2', Zhang¹⁴³ a proposé d'installer l'acétylglycine sur l'alcool libre en position C3' dans le composé **4.28a,b** afin d'induire une assistance anchimérique (Schéma 45). Ainsi, il a pu favoriser la formation majoritaire d'analogues β **4.29b** dans une excellente stéréosélectivité >96:4. Le groupe d'Oivanen¹⁴⁴ a pour sa part étudié l'effet de la température réactionnelle dans le contrôle stéréosélectif induit par l'acétylglycine durant la *N*-glycosylation (Schéma 45). Leurs observations ont rapportées qu'à basse température,

Suite à ces intéressantes observations, nous avons décidé d'appliquer ces conditions réactionnelles sur nos analogues possédant un centre quaternaire en C3'. Tout d'abord, avec la contribution du Dr. Renaud Zelli, chercheur post-doctoral de notre groupe, l'acétylglycine a été incorporée sur l'alcool primaire libre de l'intermédiaire **4.26a,b** afin de générer le précurseur de glycosylation **4.33a,b**. Ce dernier a ensuite été soumis aux conditions de glycosylation utilisée précédemment à 0 °C et a fourni une stéréosélectivité de 4:1 en faveur de l'anomère β **4.34b** (Schéma 46). Bien qu'elle soit légèrement inférieure aux résultats préalablement rapportés par Zhang,¹⁴³ cette stéréosélectivité observée reste néanmoins comparable aux observations relevées par Oivanen.¹⁴⁴ La légère différence de stéréosélectivité peut être expliquée par l'incorporation de l'acétylglycine sur un alcool primaire et non secondaire qui peut l'éloigner davantage de la position anomérique en solution. Après déprotection de l'acétylglycine en conditions basiques, les produits **4.25a** et **4.25b** synthétisés précédemment sont générés dans un rendement bien plus important en faveur de l'anomère β (71 % contre 15 % pour l'anomère α).

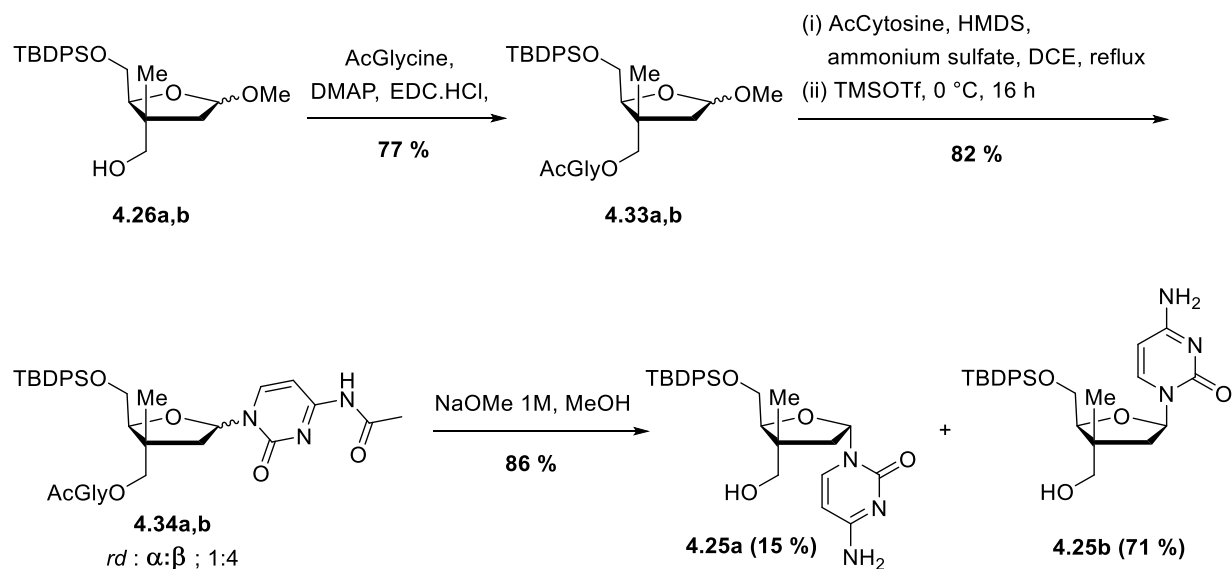


Schéma 46. – Formation majoritaire de l'anomère β induite par l'acétylglycine

Bien qu'elle soit située au niveau du centre quaternaire carboné en C3', l'acétylglycine a permis de favoriser la formation majoritaire de l'anomère β **4.25b**. L'assistance anchimérique ayant été mise en évidence sur nos analogues modifiés, nous avons décidé de l'appliquer pour

conduire à la synthèse majoritaire des analogues de configuration anomérique α . Dans ses travaux, Oivanen¹⁴⁴ a également rapporté que lorsque l'uracile silylée est introduite à 20 °C (X = H, Schéma 45), c'est le produit cinétique correspondant à l'anomère β qui est majoritairement formé et non l'anomère α (*dr* : β/α ; 85:15). Ceci s'explique par l'absence du substituant halogène électronégatif situé sur la position C5 qui améliore le caractère de bon groupe partant dans le cas des uraciles silylés modifiés **4.31a-d**. De ce fait, l'équilibre entre les deux anomères est totalement déplacé, et l'anomère β correspondant au produit cinétique est rapidement formé. Ainsi, il ne peut repasser par la forme intermédiaire oxocarbénium suite à la perte de la nucléobase, et ainsi réagir dans une étape subséquente avec une autre molécule d'uracile sur la face opposée pour générer l'anomère α .

Par conséquent, l'idée a été de placer l'acétylglycine sur l'alcool primaire situé en C5' afin de bloquer par assistance anchimérique la face supérieure durant la glycosylation, et ainsi favoriser la formation de l'anomère α suite à l'attaque nucléophile de la base sur la face opposée. Par souci d'orthogonalité, nous avons choisi d'introduire un Cbz sur l'alcool primaire libre en C3' de l'adduit **4.26a,b** puisqu'il peut être sélectivement clivé par hydrogénation en présence de l'acétylglycine en fin de synthèse. Le produit **4.35a,b** préalablement formé est ensuite traité en présence d'HF-triéthylamine, puis l'acétylglycine est introduite sur l'alcool primaire libre en C5' de l'intermédiaire **4.36a,b** pour générer le précurseur de glycosylation **4.37a,b**. L'étape de glycosylation effectuée à 30 °C a permis de récupérer les produits **4.38a,b** désirés avec une légère stéréosélectivité de 1.5:1 en faveur de l'anomère α (Schéma 47).

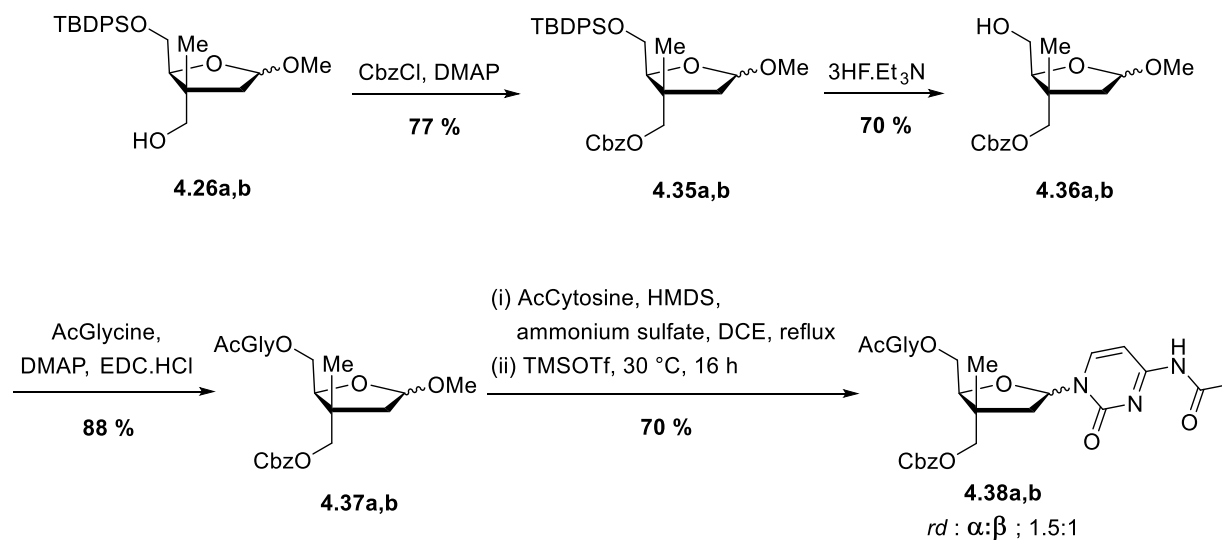
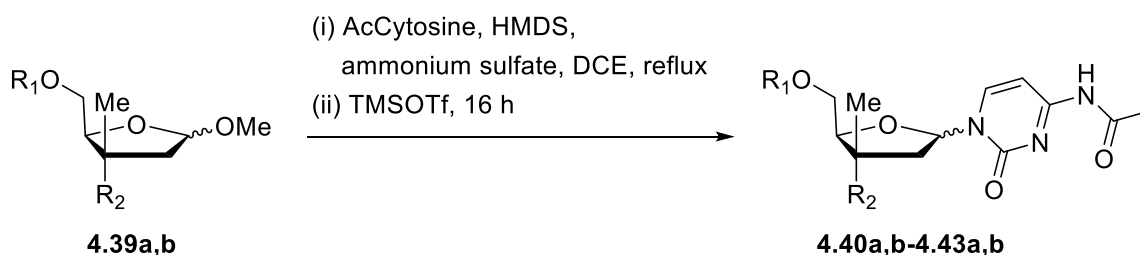


Schéma 47. – Légère stéréosélectivité observée en faveur de l'anomère α

Cependant, la stéréosélectivité observée dans ce cas-ci est bien inférieure aux résultats obtenus précédemment en faveur de l'anomère β . Afin de mieux comprendre l'origine de cette faible stéréosélectivité relevée, la réaction de glycosylation a été répétée à des températures variées à partir des divers précurseurs di-protégés précédemment utilisés (Tableau 8). Il est intéressant de relever qu'à 0 °C, en l'absence d'acétylglycine, l'anomère β est majoritairement formé dans un ratio de $\sim 1.4:1$ (entrées 1 et 3) tandis qu'à 30 °C, l'inversion de stéréosélectivité est obtenue et l'anomère α devient majoritaire grâce à l'effet anomérique (entrées 2 et 4). Ces résultats sont en parfaits accord avec les observations préalables du groupe d'Oivanen¹⁴⁴ qui stipulent que l'anomère β correspond au produit cinétique et l'anomère α au produit thermodynamique. Tel qu'observé précédemment, la présence de l'acétylglycine sur la position C3' permet de favoriser la formation de l'anomère β à basse température dans un ratio de 4:1 (entrée 5). Cependant, lorsque cette dernière est incorporée sur la position C5', l'inversion du ratio de diastéréoisomères témoigne d'une légère assistance anchimérique induite par l'acétylglycine aussi bien à 0 °C qu'à 30 °C (entrées 6 et 7).

Tableau 8. – Ratio anomérique et rendements isolés lors de la glycosylation de l'acétylcytosine silylée



Entrée	R ₁	R ₂	Temp. (°C)	Ratio α/β du produit brut ^a	Rendement total (%)
1	TBDPS	CO ₂ Me	0	1:1.4 (4.40a : 4.40b)	59
2	TBDPS	CO ₂ Me	30	1.2:1 (4.40a : 4.40b)	65
3	TBDPS	CH ₂ OBz	0	1:1.2 (4.41a : 4.41b)	73
4	TBDPS	CH ₂ OBz	30	1.3:1 (4.41a : 4.41b)	74
5	TBDPS	CH ₂ OGlyAc	0	1:4 (4.42a : 4.42b)	82
6	AcGly	CH ₂ OCbz	0	1.5:1 (4.43a : 4.43b)	23
7	AcGly	CH ₂ OCbz	30	1.5:1 (4.43a : 4.43b)	70

La réaction favorisant la formation de l'anomère α étant lente, il semblerait que l'acétylglycine bloque la face supérieure à basse température, ce qui empêche l'anomère β de se former (produit cinétique). Le faible rendement semble indiquer que la réaction a besoin d'énergie pour arriver à totale complétion et qu'il est nécessaire de chauffer le bain réactionnel à 30 °C (entrée 6). De même, la faible stéréosélectivité observée en faveur de l'anomère α peut être due

à une participation du groupement Cbz qui pourrait également effectuer une assistance opposée et ainsi bloquer la face inférieure (entrée 7). Il serait intéressant de vérifier cette hypothèse en répétant la réaction à 30 °C avec un groupement en C3' ne pouvant exercer une éventuelle assistance anchimérique (TBDPS, Bn, Tr) et ainsi, de voir si la stéréosélectivité serait davantage favorisée en faveur de l'anomère α . Une autre explication pourrait résider dans l'encombrement stérique causée par le méthyl en C3' qui est situé sur la même face que la glycine en C5'. Cette gêne pourrait empêcher cette dernière de venir bloquer efficacement la position anomérique et ceci expliquerait le faible ratio ($\sim 1.5:1$) observé en faveur de l'anomère α .

4.4 Conclusion

Nous avons appliqué la nouvelle stratégie de synthèse développée précédemment pour générer de nouveaux analogues de nucléosides C2'-désoxy comportant un centre quaternaire en position C3'. Cette stratégie permet d'obtenir rapidement et efficacement ces analogues ciblés depuis longtemps par notre groupe. Les premières investigations concernant la réaction de *N*-glycosylation sélective ont été menées et les résultats obtenus sont encourageants. L'assistance anchimérique réalisée par l'acétylglycine située sur la position C3' permet de favoriser la formation de l'anomère β avec une stéréosélectivité de 4:1. Cependant, quelques travaux d'optimisations supplémentaires doivent être réalisés afin d'augmenter la conversion en faveur de l'anomère α lors de la *N*-glycosylation. Finalement, les analogues de nucléosides synthétisés ont été envoyés pour effectuer plusieurs tests contre une série de virus et d'enzymes polymérase.

Conclusion générale

Au cours de ce manuscrit, une stratégie de synthèse permettant d'accéder sélectivement aux analogues de nucléosides de type *arabino* (C1'- α) portant un atome de fluor en position C2' a été élaborée. Le développement d'une nouvelle réaction d'aldolisation de Mukaiyama énantiosélective impliquant un α -alkoxy aldéhyde protégé ainsi qu'un complexe chiral permet d'accéder rapidement à l'intermédiaire clé triprotégé avec des hauts rendements et des hautes diastéréosélectivités. L'utilisation de l'approche acyclique permet également l'installation du dithioacétal nécessaire à la construction stéréosélective du lien glycosidique. Dès lors, la cyclisation O4'→C1' par déplacement nucléophile de type « *S_N2-like* » conduit à la formation exclusive de l'anomère α comportant un atome de fluor en C2' et un centre quaternaire en C3'. L'analogue LCB-1185 a ainsi pu être sélectivement généré en 14 étapes dans un rendement global de 13 %. Cette approche permet également la fonctionnalisation efficace et sélective des analogues en toute fin de synthèse grâce à l'utilisation de groupements protecteurs orthogonaux. Ainsi, les dérivés fonctionnalisés en C3' de LCB-1185 pourraient être préparés sélectivement par cette méthode.

Par la suite, cette nouvelle stratégie de synthèse a été appliquée pour la synthèse rapide et efficace de nouveaux analogues de nucléosides C2'-désoxy comportant un centre quaternaire en C3' ciblés de longue date par notre groupe. La déprotection sélective du benzoate situé sur la position C3' permet de séparer facilement les anomères α et β , alors mono-protégés en C5', générés lors de la glycosylation. Les premières investigations sur la stéréosélectivité générée par l'acétylglycine durant la réaction de glycosylation ont mis en évidence une assistance anchimérique favorisant la formation majoritaire de l'anomère β à froid (ratio α/β ; 1:4) et une légère préférence pour l'anomère α à 30 °C (ratio α/β ; 1.5 :1). Finalement, les analogues de nucléosides C2'-désoxy ciblés sont présentement testés contre divers virus et enzymes polymérase.

Références bibliographiques

1. Jordheim, L. P.; Durantel, D.; Zoulim, F.; Dumontet, C., Advances in the development of nucleoside and nucleotide analogues for cancer and viral diseases. *Nat Rev Drug Discov* **2013**, *12* (6), 447-64.
2. Voet D., V., J. G., Pratt C. W., *Fundamentals of Biochemistry – Life at the Molecular Level* 4ed.; John Wiley & Sons : Hoboken: **2013**.
3. Watson, J. D.; Crick, F. H. C., Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* **1953**, *171* (4356), 737-738.
4. Cihlar, T.; Ray, A. S., Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after zidovudine. *Antiviral Res* **2010**, *85* (1), 39-58.
5. Galmarini, C. M.; Popowycz, F.; Joseph, B., Cytotoxic nucleoside analogues: different strategies to improve their clinical efficacy. *Curr Med Chem* **2008**, *15* (11), 1072-82.
6. Herdewijn, P., Structural requirements for antiviral activity in nucleosides. *Drug Discovery Today* **1997**, *2* (6), 235-242.
7. Galmarini, C. M.; Jordheim, L.; Dumontet, C., Pyrimidine nucleoside analogs in cancer treatment. *Expert Rev Anticancer Ther* **2003**, *3* (5), 717-728.
8. Pradere, U.; Garnier-Amblard, E. C.; Coats, S. J.; Amblard, F.; Schinazi, R. F., Synthesis of nucleoside phosphate and phosphonate prodrugs. *Chem Rev* **2014**, *114* (18), 9154-218.
9. Young, J. D.; Yao, S. Y.; Sun, L.; Cass, C. E.; Baldwin, S. A., Human equilibrative nucleoside transporter (ENT) family of nucleoside and nucleobase transporter proteins. *Xenobiotica* **2008**, *38* (7-8), 995-1021.
10. Eyer, L.; Nencka, R.; de Clercq, E.; Seley-Radtke, K.; Růžek, D., Nucleoside analogs as a rich source of antiviral agents active against arthropod-borne flaviviruses. *Antivir Chem Chemother* **2018**, *26*, 2040206618761299-2040206618761299.
11. Zhenchuk, A.; Lotfi, K.; Juliusson, G.; Albertioni, F., Mechanisms of anti-cancer action and pharmacology of clofarabine. *Biochem Pharmacol* **2009**, *78* (11), 1351-9.
12. Sabini, E.; Ort, S.; Monnerjahn, C.; Konrad, M.; Lavie, A., Structure of human dCK suggests strategies to improve anticancer and antiviral therapy. *Nat Struct Biol* **2003**, *10* (7), 513-9.

13. Slusarczyk, M.; Lopez, M. H.; Balzarini, J.; Mason, M.; Jiang, W. G.; Blagden, S.; Thompson, E.; Ghazaly, E.; McGuigan, C., Application of ProTide technology to gemcitabine: a successful approach to overcome the key cancer resistance mechanisms leads to a new agent (NUC-1031) in clinical development. *J Med Chem* **2014**, *57* (4), 1531-42.
14. Mehellou, Y.; Rattan, H. S.; Balzarini, J., The ProTide Prodrug Technology: From the Concept to the Clinic. *J Med Chem* **2018**, *61* (6), 2211-2226.
15. Warren, T. K.; Jordan, R.; Lo, M. K.; Ray, A. S.; Mackman, R. L.; Soloveva, V.; Siegel, D.; Perron, M.; Bannister, R.; Hui, H. C.; Larson, N.; Strickley, R.; Wells, J.; Stuthman, K. S.; Van Tongeren, S. A.; Garza, N. L.; Donnelly, G.; Shurtleff, A. C.; Retterer, C. J.; Gharaibeh, D.; Zamani, R.; Kenny, T.; Eaton, B. P.; Grimes, E.; Welch, L. S.; Gomba, L.; Wilhelmsen, C. L.; Nichols, D. K.; Nuss, J. E.; Nagle, E. R.; Kugelman, J. R.; Palacios, G.; Doerffler, E.; Neville, S.; Carra, E.; Clarke, M. O.; Zhang, L.; Lew, W.; Ross, B.; Wang, Q.; Chun, K.; Wolfe, L.; Babusis, D.; Park, Y.; Stray, K. M.; Trancheva, I.; Feng, J. Y.; Barauskas, O.; Xu, Y.; Wong, P.; Braun, M. R.; Flint, M.; McMullan, L. K.; Chen, S. S.; Fearn, R.; Swaminathan, S.; Mayers, D. L.; Spiropoulou, C. F.; Lee, W. A.; Nichol, S. T.; Cihlar, T.; Bavari, S., Therapeutic efficacy of the small molecule GS-5734 against Ebola virus in rhesus monkeys. *Nature* **2016**, *531* (7594), 381-5.
16. Gilead (2020), Traitement COVID-19 au Remdésivir <https://www.gilead.com/news-and-press/press-room/press-releases/2020/6/gilead-announces-results-from-phase-3-trial-of-remdesivir-in-patients-with-moderate-covid-19>.
17. De Clercq, E., Antiviral drugs in current clinical use. *J Clin Virol* **2004**, *30* (2), 115-33.
18. De Clercq, E.; Holy, A., Acyclic nucleoside phosphonates: a key class of antiviral drugs. *Nat Rev Drug Discov* **2005**, *4* (11), 928-40.
19. Blumberg, B. S., Hepatitis B virus, the vaccine, and the control of primary cancer of the liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1997**, *94* (14), 7121-5.
20. Sells, M. A.; Chen, M. L.; Acs, G., Production of hepatitis B virus particles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1987**, *84* (4), 1005-1009.
21. (2002), J. A. P., <https://www.netterimages.com/artist-james-a-perkins.html>.

22. Goffard, A., Généralités sur le virus de l'hépatite B. http://un-ori2.crihan.fr/unsfp/2010_Lille_Goffard_VHB/co/03_generalites.html. Université de Lille.
23. Drexler, J. F.; Geipel, A.; Konig, A.; Corman, V. M.; van Riel, D.; Leijten, L. M.; Bremer, C. M.; Rasche, A.; Cottontail, V. M.; Maganga, G. D.; Schlegel, M.; Muller, M. A.; Adam, A.; Klose, S. M.; Carneiro, A. J.; Stocker, A.; Franke, C. R.; Gloza-Rausch, F.; Geyer, J.; Annan, A.; Adu-Sarkodie, Y.; Oppong, S.; Binger, T.; Vallo, P.; Tschapka, M.; Ulrich, R. G.; Gerlich, W. H.; Leroy, E.; Kuiken, T.; Glebe, D.; Drosten, C., Bats carry pathogenic hepadnaviruses antigenically related to hepatitis B virus and capable of infecting human hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2013**, *110* (40), 16151-6.
24. Winer, B. Y.; Ploss, A., Determinants of hepatitis B and delta virus host tropism. *Curr Opin Virol* **2015**, *13*, 109-16.
25. Mast, E. E.; Weinbaum, C. M.; Fiore, A. E.; Alter, M. J.; Bell, B. P.; Finelli, L.; Rodewald, L. E.; Douglas, J. M., Jr.; Janssen, R. S.; Ward, J. W.; Advisory Committee on Immunization Practices Centers for Disease, C.; Prevention, A comprehensive immunization strategy to eliminate transmission of hepatitis B virus infection in the United States: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) Part II: immunization of adults. *MMWR Recomm Rep* **2006**, *55* (RR-16), 1-33; quiz CE1-4.
26. Liang, T. J., Hepatitis B: the virus and disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)* **2009**, *49* (5 Suppl), S13-21.
27. Gonzalez, S. A., Hepatitis B Virus. <http://www.antimicrobe.org/v22.asp>.
28. De Clercq, E., HIV resistance to reverse transcriptase inhibitors. *Biochem Pharmacol* **1994**, *47* (2), 155-69.
29. Tambutet, G.; Becerril-Jimenez, F.; Dostie, S.; Simard, R.; Prevost, M.; Mochirian, P.; Guindon, Y., Dual-face nucleoside scaffold featuring a stereogenic all-carbon quaternary center. Intramolecular silicon tethered group-transfer reaction. *Org Lett* **2014**, *16* (21), 5698-701.
30. Dostie, S.; Prevost, M.; Mochirian, P.; Tanveer, K.; Andrella, N.; Rostami, A.; Tambutet, G.; Guindon, Y., Diastereoselective Synthesis of C2'-Fluorinated Nucleoside Analogues Using an Acyclic Approach. *J Org Chem* **2016**, *81* (22), 10769-10790.

31. Cohen, M. H.; Johnson, J. R.; Massie, T.; Sridhara, R.; McGuinn, W. D., Jr.; Abraham, S.; Booth, B. P.; Goheer, M. A.; Morse, D.; Chen, X. H.; Chidambaram, N.; Kenna, L.; Gobburu, J. V.; Justice, R.; Pazdur, R., Approval summary: nelarabine for the treatment of T-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res* **2006**, *12* (18), 5329-35.
32. Galmarini, C. M.; Mackey, J. R.; Dumontet, C., Nucleoside analogues and nucleobases in cancer treatment. *Lancet Oncol* **2002**, *3* (7), 415-24.
33. Shao, J.; Zhou, B.; Chu, B.; Yen, Y., Ribonucleotide reductase inhibitors and future drug design. *Curr Cancer Drug Targets* **2006**, *6* (5), 409-31.
34. Tsume, Y.; Hilfinger, J. M.; Amidon, G. L., Enhanced cancer cell growth inhibition by dipeptide prodrugs of floxuridine: increased transporter affinity and metabolic stability. *Mol Pharm* **2008**, *5* (5), 717-27.
35. Prusoff, W. H., Synthesis and biological activities of iododeoxyuridine, an analog of thymidine. *Biochim Biophys Acta* **1959**, *32* (1), 295-6.
36. Hyndiuk, R. A.; Kaufman, H. E., Newer Compounds in Therapy of Herpes Simplex Keratitis. *Arch Ophthalmol* **1967**, *78* (5), 600-605.
37. Derissen, E. J.; Beijnen, J. H.; Schellens, J. H., Concise drug review: azacitidine and decitabine. *Oncologist* **2013**, *18* (5), 619-24.
38. Lewandowska, J.; Bartoszek, A., DNA methylation in cancer development, diagnosis and therapy--multiple opportunities for genotoxic agents to act as methylome disruptors or remediators. *Mutagenesis* **2011**, *26* (4), 475-87.
39. Liang, G.; Weisenberger, D. J., DNA methylation aberrancies as a guide for surveillance and treatment of human cancers. *Epigenetics* **2017**, *12* (6), 416-432.
40. Robertson, K. D., DNA methylation, methyltransferases, and cancer. *Oncogene* **2001**, *20* (24), 3139-55.
41. Kalinka-Warzocho, E.; Wajs, J.; Lech-Maranda, E.; Ceglarek, B.; Holowiecki, J.; Federowicz, I.; Walewski, J.; Czyz, J.; Robak, T.; Warzocho, K.; Polish Lymphoma Research, G., Randomized comparison of cladribine alone or in combination with cyclophosphamide, and cyclophosphamide, vincristine and prednisone in previously untreated low-grade B-

- cell non-Hodgkin lymphoma patients: final report of the Polish Lymphoma Research Group. *Cancer* **2008**, *113* (2), 367-75.
42. Pastor-Anglada, M.; Molina-Arcas, M.; Casado, F. J.; Bellosillo, B.; Colomer, D.; Gil, J., Nucleoside transporters in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia* **2004**, *18* (3), 385-93.
 43. Pettitt, A. R., Mechanism of action of purine analogues in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* **2003**, *121* (5), 692-702.
 44. Robak, T., Recent progress in the management of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Treat Rev* **2007**, *33* (8), 710-28.
 45. Robak, T.; Lech-Maranda, E.; Korycka, A.; Robak, E., Purine nucleoside analogs as immunosuppressive and antineoplastic agents: mechanism of action and clinical activity. *Curr Med Chem* **2006**, *13* (26), 3165-89.
 46. Zinzani, P. L., Non-Hodgkin's lymphoma: the evolving role of purine analogues. *Best Pract Res Clin Haematol* **2002**, *15* (3), 505-16.
 47. Robak, T., Current treatment options in hairy cell leukemia and hairy cell leukemia variant. *Cancer Treat Rev* **2006**, *32* (5), 365-76.
 48. Korycka, A.; Lech-Maranda, E.; Robak, T., Novel purine nucleoside analogues for hematological malignancies. *Recent Pat Anticancer Drug Discov* **2008**, *3* (2), 123-36.
 49. Charette, M.; Gray, M. W., Pseudouridine in RNA: what, where, how, and why. *IUBMB life* **2000**, *49* (5), 341-51.
 50. Štambaský, J.; Hocek, M.; Kočovský, P., C-Nucleosides: Synthetic Strategies and Biological Applications. *Chem Rev* **2009**, *109* (12), 6729-6764.
 51. De Clercq, E., C-Nucleosides To Be Revisited. *J Med Chem* **2016**, *59* (6), 2301-2311.
 52. Seley-Radtke, K. L.; Yates, M. K., The evolution of nucleoside analogue antivirals: A review for chemists and non-chemists. Part 1: Early structural modifications to the nucleoside scaffold. *Antiviral Res* **2018**, *154*, 66-86.
 53. Srinivasan, P. R.; Borek, E., Enzymatic Alteration of Nucleic Acid Structure. *Science* **1964**, *145* (3632), 548-53.

54. Nishimura, H.; Mayama, M.; Komatsu, Y.; Kato, H.; Shimaoka, N.; Tanaka, Y., Showdomycin, a New Antibiotic from a Streptomyces Sp. *J Antibiot (Tokyo)* **1964**, *17*, 148-55.
55. Bzowska, A., Formycins and their Analogues: Purine Nucleoside Phosphorylase Inhibitors and their Potential Application in Immunosuppression and Cancer. In *Modified Nucleosides*, Herdewijn, P., Ed. **2008**; pp 473-510.
56. Camerman, A.; Mastropaolo, D.; Camerman, N., Azidothymidine: crystal structure and possible functional role of the azido group. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1987**, *84* (23), 8239-8242.
57. Hamann, M.; Pierra, C.; Sommadossi, J. P.; Musiu, C.; Vargiu, L.; Liuzzi, M.; Storer, R.; Gosselin, G., Synthesis and antiviral evaluation of thieno[3,4-d]pyrimidine C-nucleoside analogues of 2',3'-dideoxy- and 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-adenosine and -inosine. *Bioorg Med Chem* **2009**, *17* (6), 2321-6.
58. Bonate, P. L.; Arthaud, L.; Cantrell, W. R., Jr.; Stephenson, K.; Secrist, J. A., 3rd; Weitman, S., Discovery and development of clofarabine: a nucleoside analogue for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* **2006**, *5* (10), 855-63.
59. Chuang, R. Y.; Chuang, L. F., Inhibition of RNA polymerase as a possible anti-leukaemic action of cytosine arabinoside. *Nature* **1976**, *260* (5551), 549-50.
60. Pui, C. H.; Jeha, S., Clofarabine. *Nat Rev Drug Discov* **2005**, *Suppl*, S12-3.
61. Townsend, A. J.; Cheng, Y. C., Sequence-specific effects of ara-5-aza-CTP and ara-CTP on DNA synthesis by purified human DNA polymerases in vitro: visualization of chain elongation on a defined template. *Molecular pharmacology* **1987**, *32* (3), 330-9.
62. Gillis, E. P.; Eastman, K. J.; Hill, M. D.; Donnelly, D. J.; Meanwell, N. A., Applications of Fluorine in Medicinal Chemistry. *J Med Chem* **2015**, *58* (21), 8315-59.
63. Pandita, A.; Kumar, B.; Manvati, S.; Vaishnavi, S.; Singh, S. K.; Bamezai, R. N., Synergistic combination of gemcitabine and dietary molecule induces apoptosis in pancreatic cancer cells and down regulates PKM2 expression. *PLoS One* **2014**, *9* (9), e107154.

64. Di Marco, M.; Di Cicilia, R.; Macchini, M.; Nobili, E.; Vecchiarelli, S.; Brandi, G.; Biasco, G., Metastatic pancreatic cancer: is gemcitabine still the best standard treatment? (Review). *Oncology reports* **2010**, *23* (5), 1183-92.
65. Coates, J. A.; Cammack, N.; Jenkinson, H. J.; Jowett, A. J.; Jowett, M. I.; Pearson, B. A.; Penn, C. R.; Rouse, P. L.; Viner, K. C.; Cameron, J. M., (-)-2'-deoxy-3'-thiacytidine is a potent, highly selective inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 and type 2 replication in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* **1992**, *36* (4), 733-9.
66. Hart, G. J.; Orr, D. C.; Penn, C. R.; Figueiredo, H. T.; Gray, N. M.; Boehme, R. E.; Cameron, J. M., Effects of (-)-2'-deoxy-3'-thiacytidine (3TC) 5'-triphosphate on human immunodeficiency virus reverse transcriptase and mammalian DNA polymerases alpha, beta, and gamma. *Antimicrob Agents Chemother* **1992**, *36* (8), 1688-1694.
67. Liotta, D. C. S., Raymond F.; Choi, W.-B. Method of resolution and antiviral activity of 1,3-oxathiolane nucleoside enantiomers. Patent US 7468436. **2008**.
68. Sendula, R.; Orban, E.; Hudecz, F.; Sagi, G.; Jablonkai, I., Synthesis and cytotoxic activity of novel 5-substituted-1-(beta-L-arabinofuranosyl) pyrimidine nucleosides. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2012**, *31* (6), 482-500.
69. Forsman, J. J.; Leino, R., L-Pentoses in biological and medicinal applications. *Chem Rev* **2011**, *111* (5), 3334-57.
70. Schinazi, R. F.; Chu, C. K.; Peck, A.; McMillan, A.; Mathis, R.; Cannon, D.; Jeong, L. S.; Beach, J. W.; Choi, W. B.; Yeola, S.; et al., Activities of the four optical isomers of 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine (BCH-189) against human immunodeficiency virus type 1 in human lymphocytes. *Antimicrob Agents Chemother* **1992**, *36* (3), 672-6.
71. Fung, J.; Lai, C. L.; Seto, W. K.; Yuen, M. F., Nucleoside/nucleotide analogues in the treatment of chronic hepatitis B. *J Antimicrob Chemother* **2011**, *66* (12), 2715-25.
72. Richardson, K. A.; Vega, T. P.; Richardson, F. C.; Moore, C. L.; Rohloff, J. C.; Tomkinson, B.; Bendele, R. A.; Kuchta, R. D., Polymerization of the triphosphates of AraC, 2',2'-difluorodeoxycytidine (dFdC) and OSI-7836 (T-araC) by human DNA polymerase alpha and DNA primase. *Biochem Pharmacol* **2004**, *68* (12), 2337-46.

73. Someya, H.; Waud, W. R.; Parker, W. B., Long intracellular retention of 4'-thio-arabinofuranosylcytosine 5'-triphosphate as a critical factor for the anti-solid tumor activity of 4'-thio-arabinofuranosylcytosine. *Cancer Chemother Pharmacol* **2006**, *57* (6), 772-80.
74. Waud, W. R.; Gilbert, K. S.; Shepherd, R. V.; Montgomery, J. A.; Secrist, J. A., 3rd, Preclinical antitumor activity of 4'-thio-beta-D-arabinofuranosylcytosine (4'-thio-ara-C). *Cancer Chemother Pharmacol* **2003**, *51* (5), 422-6.
75. Roy, A. M.; Tiwari, K. N.; Parker, W. B.; Secrist, J. A., 3rd; Li, R.; Qu, Z., Antiangiogenic activity of 4'-thio-beta-D-arabinofuranosylcytosine. *Mol Cancer Ther* **2006**, *5* (9), 2218-24.
76. Korycka, A.; Blonski, J. Z.; Robak, T., Forodesine (BCX-1777, Immucillin H)--a new purine nucleoside analogue: mechanism of action and potential clinical application. *Mini Rev Med Chem* **2007**, *7* (9), 976-83.
77. Bantia, S.; Miller, P. J.; Parker, C. D.; Ananth, S. L.; Horn, L. L.; Kilpatrick, J. M.; Morris, P. E.; Hutchison, T. L.; Montgomery, J. A.; Sandhu, J. S., Purine nucleoside phosphorylase inhibitor BCX-1777 (Immucillin-H)--a novel potent and orally active immunosuppressive agent. *Int Immunopharmacol* **2001**, *1* (6), 1199-210.
78. Kicska, G. A.; Long, L.; Horig, H.; Fairchild, C.; Tyler, P. C.; Furneaux, R. H.; Schramm, V. L.; Kaufman, H. L., Immucillin H, a powerful transition-state analog inhibitor of purine nucleoside phosphorylase, selectively inhibits human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2001**, *98* (8), 4593-8.
79. Schramm, V. L.; Tyler, P. C., Imino-sugar-based nucleosides. *Curr Top Med Chem* **2003**, *3* (5), 525-40.
80. Bergeron-Brlek, M.; Meanwell, M.; Britton, R., Direct synthesis of imino-C-nucleoside analogues and other biologically active iminosugars. *Nat Commun* **2015**, *6*, 6903.
81. de Sousa Cavalcante, L.; Monteiro, G., Gemcitabine: metabolism and molecular mechanisms of action, sensitivity and chemoresistance in pancreatic cancer. *Eur J Pharmacol* **2014**, *741*, 8-16.
82. Marquez, V. E.; Schroeder, G. K.; Ludek, O. R.; Siddiqui, M. A.; Ezzitouni, A.; Wolfenden, R., Contrasting behavior of conformationally locked carbocyclic nucleosides of adenosine and

- cytidine as substrates for deaminases. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2009**, *28* (5), 614-32.
83. Harvey, S. C.; Prabhakaran, M., Ribose puckering: structure, dynamics, energetics, and the pseudorotation cycle. *J Am Chem Soc* **1986**, *108* (20), 6128-6136.
84. Damaraju, V. L.; Mowles, D.; Smith, K. M.; Yao, S. Y.; Young, J. D.; Marquez, V. E.; Cass, C. E., Influence of sugar ring conformation on the transportability of nucleosides by human nucleoside transporters. *Chembiochem* **2011**, *12* (18), 2774-8.
85. Ludek, O. R.; Marquez, V. E., A greener enantioselective synthesis of the antiviral agent North-methanocarbothymidine (N-MCT) from 2-deoxy-d-ribose. *Tetrahedron* **2009**, *65* (41), 8461-8467.
86. Nakamura, T.; Zhao, Y.; Yamagata, Y.; Hua, Y. J.; Yang, W., Watching DNA polymerase ϵ make a phosphodiester bond. *Nature* **2012**, *487* (7406), 196-201.
87. Wilson, L.; Hager, M.; El-Kattan, Y.; Liotta, D., Nitrogen Glycosylation Reactions Involving Pyrimidine and Purine Nucleoside Bases with Furanoside Sugars. *Synthesis* **1995**, 1465-1479.
88. Niedballa, U.; Vorbrüggen, H., Synthesis of nucleosides. 9. General synthesis of N-glycosides. I. Synthesis of pyrimidine nucleosides. *J Org Chem* **1974**, *39* (25), 3654-3660.
89. Vorbrüggen, H.; Höfle, G., Nucleoside Syntheses, XXIII(1) On the Mechanism of Nucleoside Synthesis. *Chem Ber* **1981**, *114* (4), 1256-1268.
90. Vorbrüggen, H. R.-P., C., *Handbook of Nucleoside Synthesis*. 2001; p 631.
91. Vorbrüggen, H., Some recent trends and progress in nucleoside synthesis. *Acta biochimica Polonica* **1996**, *43* (1), 25-36.
92. Hilbert, G.; Johnson, T. d., Researches on pyrimidines. CXVII. A method for the synthesis of nucleosides. *J Am Chem Soc* **1930**, *52* (11), 4489-4494.
93. Guo, J.; Ye, X. S., Protecting groups in carbohydrate chemistry: influence on stereoselectivity of glycosylations. *Molecules* **2010**, *15* (10), 7235-65.
94. Seela, F.; Winkeler, H. D., 2-Amino-7-(β -D-arabinofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4(3H)-one. Synthesis of ara-7-deazaguanosine via phase-transfer glycosylation. *J Org Chem* **1982**, *47* (2), 226-230.

95. Montgomery, J.; Hewson, K., Nucleosides of 2-fluoroadenine. *J Med Chem* **1969**, *12* (3), 498-504.
96. Montgomery, J. A. Anticancer and Antiviral Activity of 9- β -D-arabinofuranosyl-2-fluoroadenine. Patent US 4,188,378. **1980**.
97. Montgomery, J. A.; Clayton, S. D.; Shortnacy, A. T., An improved procedure for the preparation of 9- β -D-Arabinofuranosyl-2-fluoroadenine. *J Het Chem* **1979**, *16* (1), 157-160.
98. Schulmeier, B. E.; Cantrell, W. R., Jr.; Bauta, W. E., Preparation of a fludarabine intermediate via selective alkylation of 2-fluoroadenine. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **2006**, *25* (7), 735-45.
99. Hanessian, S.; Condé, J. J.; Lou, B., The stereocontrolled synthesis of 1, 2-cis furanosyl nucleosides via a novel anomeric activation. *Tetrahedron Lett* **1995**, *36* (33), 5865-5868.
100. Prévost, M.; St-Jean, O.; Guindon, Y., Synthesis of 1', 2'-cis-Nucleoside Analogues: Evidence of Stereoelectronic Control for SN2 Reactions at the Anomeric Center of Furanosides. *J Am Chem Soc* **2010**, *132* (35), 12433-12439.
101. Vorbrueggen, H., Adventures in Silicon-Organic Chemistry. *Acc Chem Res* **1995**, *28* (12), 509-520.
102. Markiewicz, W. T., *J. Chem. Res. (S)* **1979**, 24.
103. Robins, M. J.; Wilson, J. S.; Hansske, F., Nucleic acid related compounds. 42. A general procedure for the efficient deoxygenation of secondary alcohols. Regiospecific and stereoselective conversion of ribonucleosides to 2'-deoxynucleosides. *J Am Chem Soc* **1983**, *105* (12), 4059-4065.
104. Jung, M. E.; Castro, C., New approach to the synthesis of β -2'-deoxyribonucleosides: intramolecular Vorbrueggen coupling. *J Org Chem* **1993**, *58* (4), 807-808.
105. Okauchi, T.; Kubota, H.; Narasaka, K., Stereoselective Synthesis of β -2-Deoxyribonucleosides from 1-O-Acetyl-3-O-[2-(methylsulfinyl)ethyl]-2-deoxyribose. *Chem Lett* **1989**, *18* (5), 801-804.
106. Mukaiyama, T.; Hirano, N.; Nishida, M.; Uchiro, H., Catalytic Stereoselective Synthesis of Pyrimidine 2-Deoxyribonucleosides. *Chem Lett* **1996**, *25* (2), 99-100.

107. Bauta, W. E.; Schulmeier, B. E.; Burke, B.; Puente, J. F.; Cantrell, W. R.; Lovett, D.; Goebel, J.; Anderson, B.; Ionescu, D.; Guo, R., A New Process for Antineoplastic Agent Clofarabine. *Org Proc Res & Dev* **2004**, *8* (6), 889-896.
108. Anderson, B. G.; Bauta, W. E.; Cantrell, J., William R; Engles, T.; Lovett, D. P., Isolation, synthesis, and characterization of impurities and degradants from the clofarabine process. *Org Proc Res & Dev* **2008**, *12* (6), 1229-1237.
109. Liotta, D. P., G.; Bluemling, G.R. Nucleotide and Nucleoside Therapeutics Compositions and Uses Related Thereto. WO2014/124430 A1. **2014**.
110. Hager, M. W. L., D.C., Cyclization protocols for controlling the glycosidic stereochemistry of nucleosides. Application to the synthesis of the antiviral agent 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT). *J Am Chem Soc* **1991**, *113*, 5117-5119.
111. Hanessian, S.; Dixit, D. M.; Liak, T. J., Studies directed toward the total synthesis of the ezomycins, the octosyl acids and related antibiotics. *Pure and Applied Chemistry* **1981**, *53* (1), 129-148.
112. Chapdelaine, D.; Cardinal-David, B.; Prevost, M.; Gagnon, M.; Thumin, I.; Guindon, Y., A stereoselective approach to nucleosides and 4'-thioanalogues from acyclic precursors. *J Am Chem Soc* **2009**, *131* (47), 17242-5.
113. Guindon, Y.; Gagnon, M.; Thumin, I.; Chapdelaine, D.; Jung, G.; Guerin, B., Synthesis of N-glycosides. An alternative approach based on diastereoselective base coupling and S(N)₂ cyclization. *Org Lett* **2002**, *4* (2), 241-4.
114. Prévost, M.; Dostie, S.; Waltz, M.-È.; Guindon, Y., Investigation of Diastereoselective Acyclic α -Alkoxydithioacetal Substitutions Involving Thiocarbenium Intermediates. *The J Org Chem* **2014**, *79* (21), 10504-10525.
115. Izawa, K.; Takamatsu, S.; Katayama, S.; Hirose, N.; Kozai, S.; Maruyama, T., An industrial process for synthesizing Iodenosine (FddA). *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids* **2003**, *22* (5-8), 507-517.
116. Kawasaki, A. M.; Casper, M. D.; Freier, S. M.; Lesnik, E. A.; Zounes, M. C.; Cummins, L. L.; Gonzalez, C.; Cook, P. D., Uniformly modified 2'-deoxy-2'-fluoro-phosphorothioate

- oligonucleotides as nuclease-resistant antisense compounds with high affinity and specificity for RNA targets. *J Med Chem* **1993**, *36* (7), 831-841.
117. Barth, R. R., C. A.; Schöne, O., *Synthetic Routes to Sofosbuvir*. Springer International Publishing: Cham: **2016**.
 118. Guindon, Y. Patent US 2010/0093737 A1 **2010**.
 119. Guindon, Y. M., P.; Nemer, M.; Prévost, M. Nucleoside Analogues and Methods of Use Thereof. PCT/CA2017/051096. **2017**.
 120. Mémoire de maîtrise de Tommy Lussier. Montréal, U. d., Ed. **2019**.
 121. Hanessian, S.; Lavallee, P., The preparation and synthetic utility of tert-butylidiphenylsilyl ethers. *Can J of Chem* **1975**, *53* (19), 2975-2977.
 122. Duplessis, M.; Waltz, M. E.; Bencheqroun, M.; Cardinal-David, B.; Guindon, Y., Stereoselective quaternary center construction via atom-transfer radical cyclization using silicon tethers on acyclic precursors. *Org Lett* **2009**, *11* (14), 3148-51.
 123. Beeson, T. D.; Macmillan, D. W., Enantioselective organocatalytic alpha-fluorination of aldehydes. *J Am Chem Soc* **2005**, *127* (24), 8826-8.
 124. Corey, E. J. G., J.-L.; Ulrich, P., *Tetrahedron Lett* **1976**.
 125. Coppola, G. M., Amberlyst-15, A Superior Acid Catalyst for the Cleavage of Acetals. *Synthesis* **1984**, *1984* (12), 1021-1023.
 126. Keck, G. E.; Krishnamurthy, D., Pronounced Solvent and Concentration Effects in an Enantioselective Mukaiyama Aldol Condensation Using BINOL-Titanium(IV) Catalysts. *J Am Chem Soc* **1995**, *117* (8), 2363-2364.
 127. Mémoire de maîtrise de Maud Nguyen. Montréal, U. d., Ed. **2005**.
 128. Mémoire de maîtrise de Marie-Eve Waltz. Montréal, U. d., Ed. **2009**.
 129. Iwasaki, K.; Sasaki, S.; Kasai, Y.; Kawashima, Y.; Sasaki, S.; Ito, T.; Yotsu-Yamashita, M.; Sasaki, M., Total Synthesis of Polycavernosides A and B, Two Lethal Toxins from Red Alga. *J Org Chem* **2017**, *82* (24), 13204-13219.
 130. Singh, G. P. Process for the Manufacture of cis(-)-Lamivudine. US 201102/57396 A1. **2011**.
 131. Lussier, T.; Manchoju, A.; Wang, G.; Dostie, S.; Foster, S.; Mochirian, P.; Prevost, M.; Guindon, Y., Diastereoselective Synthesis of Arabino- and Ribo-like Nucleoside Analogues

- Bearing a Stereogenic C3' All-Carbon Quaternary Center. *J Org Chem* **2019**, *84* (24), 16055-16067.
132. Nguyen, J. D.; Tucker, J. W.; Konieczynska, M. D.; Stephenson, C. R., Intermolecular atom transfer radical addition to olefins mediated by oxidative quenching of photoredox catalysts. *J Am Chem Soc* **2011**, *133* (12), 4160-4163.
133. Furst, L.; Matsuura, B. S.; Narayanam, J. M.; Tucker, J. W.; Stephenson, C. R., Visible light-mediated intermolecular C-H functionalization of electron-rich heterocycles with malonates. *Org Lett* **2010**, *12* (13), 3104-7.
134. Tucker, J. W.; Narayanam, J. M.; Krabbe, S. W.; Stephenson, C. R., Electron transfer photoredox catalysis: intramolecular radical addition to indoles and pyrroles. *Org Lett* **2010**, *12* (2), 368-71.
135. Thèse de doctorat de Starr Dostie. McGill, U. d., Ed. **2016**.
136. O'Reilly, M. C.; Lindsley, C. W., A general, enantioselective synthesis of beta- and gamma-fluoroamines. *Tetrahedron Lett* **2013**, *54* (28), 3627-3629.
137. Fitzpatrick, K. G., W.; Lehmann, A.; Sundén, G.; Von Unge, S. New Compounds Useful in Reflux Disease. WO 02/100823 A1. **2002**.
138. Stolz, F.; Reiner, M.; Blume, A.; Reutter, W.; Schmidt, R. R., Novel UDP-glycal derivatives as transition state analogue inhibitors of UDP-GlcNAc 2-epimerase. *J Org Chem* **2004**, *69* (3), 665-79.
139. Evans, P. A.; Cui, J.; Gharpure, S. J.; Hinkle, R. J., Stereoselective construction of cyclic ethers using a tandem two-component etherification: elucidation of the role of bismuth tribromide. *J Am Chem Soc* **2003**, *125* (38), 11456-7.
140. Caton-Williams, J.; Lin, L.; Smith, M.; Huang, Z., Convenient synthesis of nucleoside 5'-triphosphates for RNA transcription. *Chem Commun (Camb)* **2011**, *47* (28), 8142-4.
141. Björnsne, M.; Classon, B.; Kers, I.; Samuelsson, B.; Kvarnström, I., Synthesis of 2', 3'-dideoxy-3', 4'-dihydroxymethyl substituted pyrimidine nucleoside analogues. *Bio & Med Chem Lett* **1995**, *5* (1), 43-46.
142. Zhong, J. H.; Fishman, A.; Lee-Ruff, E., Photochemistry on soluble polymer supports: synthesis of nucleosides. *Org Lett* **2002**, *4* (25), 4415-7.

143. Liu, Z.; Li, D.; Yin, B.; Zhang, J., Highly stereoselective synthesis of 2'-deoxy- β -ribonucleosides via a 3'-(N-acetyl)-glycyl-directing group. *Tetrahedron Lett* **2010**, *51* (2), 240-243.
144. Lagerwall, T.; Heinonen, P.; Oivanen, M., Temperature controlled stereoselectivity in the synthesis of 5-halo-2'-deoxyuridine derivatives. *Tetrahedron Lett* **2015**, *56* (43), 5950-5953.

Annexe 1 : Partie expérimentale et caractérisation

Partie expérimentale et caractérisation

Remarques générales

Tel que permis par le *Guide de présentation des mémoires et des thèses de la Faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université de Montréal*, la partie expérimentale a été rédigée en anglais. La nomenclature des composés a été obtenue à partir du logiciel *ChemBioDraw Ultra* (version 14.0).

Tous les solvants anhydres, de grade HPLC, ont été séchés avec des tamis moléculaires de 4 Å avant utilisation. Les tamis moléculaires de 4 Å (billes de 1 à 2 mm) ont été activés par chauffage à 180 °C pendant 48 heures sous vide avant d'être ajoutés à de nouvelles bouteilles de solvant purgées avec de l'argon ou de l'azote. Toutes les réactions nécessitant des conditions anhydres ont été effectuées sous atmosphère positive d'argon ou d'azote dans des montages préalablement séchés à l'étuve (60 °C) et flambés sous vide. Des techniques de seringue standard ont été utilisées. Les réactifs disponibles commercialement ont été utilisés sans purification supplémentaire.

Lorsque mentionné, les produits réactionnels ont été purifiés par chromatographie éclair (*flash chromatography*) sur un gel de silice (porosité : 60 Å, taille : 40-75 µm) avec des solvants de grade HPLC, en utilisant une pression d'air comprimé. Certains produits ont également été purifiés à l'aide d'un appareil de type *Biotage Isolera One* (version 1.3.6). Les chromatographies sur couche mince (CCM) ont été effectuées sur des plaques F254 de gel de silice 60 sur aluminium (*EMD Chemicals Inc.*). Après élution, les produits ont d'abord été révélés par lampe UV, puis par une solution aqueuse de molybdate d'ammonium ou de permanganate de potassium.

Instrumentation

Les spectres de résonance magnétique nucléaire de proton (RMN ^1H) et carbone (RMN ^{13}C) ont été enregistrés à l'aide d'un appareil *Varian Unity INOVA* (500 MHz) en utilisant le pic résiduel de solvant non deutéré comme référence interne. Les déplacements chimiques des signaux sont rapportés en partie par million (δ , ppm), auxquels s'ajoutent les données de multiplicité, de constante de couplage en hertz (J , Hz) et de valeur d'intégration pour les spectres RMN ^1H , et RMN ^{13}C le cas échéant. La multiplicité a été assignée selon le code suivant : s (singulet), d (doublet), app d (doublet apparent), t (triplet), app t (triplet apparent), app dt (doublet de triplet apparent), q (quadruplet), app q (quadruplet apparent) et m (multiplet).

Les assignations RMN ^1H ont été effectuées sur la base du déplacement chimique, de l'intégration, des constantes de couplage et de la multiplicité, et ont été confirmées par des expériences de corrélation bidimensionnelles $^1\text{H}/^1\text{H}$ COSY. Les preuves stéréochimiques ont été confirmées par des expériences d'effet Overhauser nucléaire (nOe) bidimensionnelles (NOESY) pertinentes permettant, entre autres, la détermination de la configuration relative C1'-C2'. Les assignations RMN ^{13}C ont été effectuées sur la base du déplacement chimique et de la multiplicité, et ont été confirmées par des expériences de corrélation bidimensionnelles $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ (gHSQC et/ou gHMBC). Les grandes valeurs J résultent du couplage $^1\text{H}-\text{F}$ en RMN ^1H (supérieures à 16 Hz), d'un couplage $^{13}\text{C}-\text{F}$ en RMN ^{13}C (supérieures à 180 Hz), et sont rapportées lorsque possible (le couplage longue distance est également rapporté lorsque possible). Tous les ratios de produits ont été calculés à partir du spectre RMN ^1H du mélange brut réactionnel.

Les spectres infrarouges ont été enregistrés à l'aide de spectromètres à transformée de Fourier (FTIR) de type *ABB Bomen* (série MB) et de type *Bruker Platinum ATR* (série Alpha II) à partir d'un film de produit purifié. La position des pics en mode de transmittance sont rapportés en cm^{-1} .

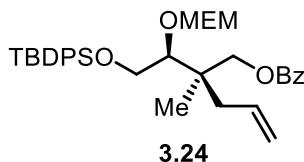
Les pouvoirs rotatoires $[\alpha]^{25}_{\text{D}}$ ont été mesurés à température ambiante à l'aide d'un polarimètre *PerkinElmer 343* par la raie D du sodium (589 nm) avec une cellule de 1.0 mL et d'un parcours

optique de 9.998 cm. La concentration (en g/100 mL) ainsi que le solvant utilisé sont également rapportés.

Les analyses de masse de basse (MS) et de haute résolution (HRMS) ont été réalisées par la *Plateforme de découvertes en protéomique* à l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal (IRCM). Les spectres ont été enregistrés sur un appareil *Thermo Scientific LTQ Orbitrap XL* avec un mode d'ionisation par électronébulisateur (ESI) couplé à un piège à ions (IT).

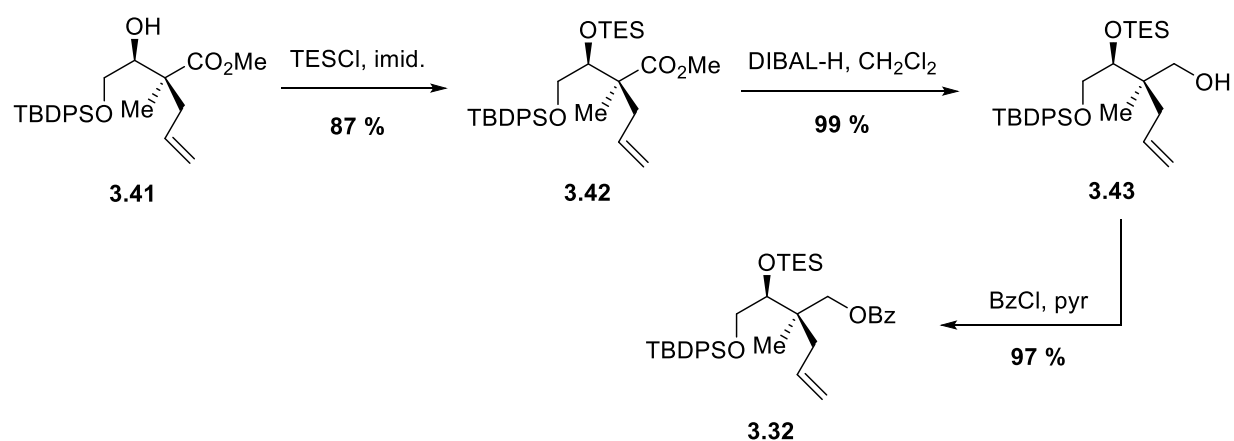
Partie expérimentale du chapitre 3

(+)-(R)-2-((S)-12,12-dimethyl-11,11-diphenyl-2,5,7,10-tetraoxa-11-silatridecan-8-yl)-2-methylpent-4-en-1-yl benzoate (**3.24**)

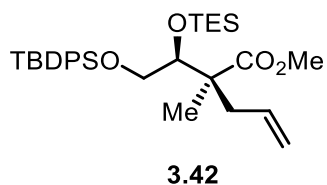


To a solution of acetonide **3.17**²⁹ (460 mg, 1.09 mmol, 1.0 equiv.) in THF-Et₂O 1:4 (5.5 mL, 0.20 M) H₅IO₆ (370 mg, 1.63 mmol, 1.5 equiv.) was added at 0 °C. The mixture was warmed to room temperature and stirred for 3 hours. Na₂SO₄ (2.0 M) was slowly added and the mixture was stirred for 10 minutes at room temperature. The aqueous layer was extracted with Et₂O (2 x 10 mL) and the combined organic fractions were dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude aldehyde (380 mg, 1.08 mmol, 1.0 equiv.) was diluted in dry THF (3.6 mL, 0.3 M) and LiBH₄ (2.0 M, 0.65 mL, 1.3 mmol) was added at -40 °C. The mixture was stirred for 1 hour, then NH₄Cl was slowly added and the mixture was stirred for 10 minutes at room temperature. The aqueous layer was extracted with EtOAc (2 x 10 mL) and the combined organic fractions were washed with a saturated solution of brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The product was filtered over a silica pad (Hexanes/EtOAc, 70:30) providing the crude alcohol (380 mg) which was used for the next step. To a solution of crude alcohol (380 mg, 1.08 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (11 mL, 0.1 M), imidazole (220 mg, 3.23 mmol, 3.0 equiv.) and TBDPSCI (0.37 mL, 1.40 mmol, 1.3 equiv.) were added at 0 °C. The mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. The reaction mixture was then treated with a saturated aqueous solution of NH₄Cl, followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 15 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 80:20) to provide alkene **3.24** as a colorless oil (625 mg, 90 % over 3 steps): *R*_f = 0.35 (Hexanes/EtOAc, 80:20); [α]_D²⁵ +48 (c 1.0,

CH₂Cl₂); **Formula:** C₃₅H₄₆O₆Si; **MW:** 590.83 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2931, 2887, 2858, 1719, 1471, 1451, 1428, 1270 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.97 – 7.95 (m, 2H), 7.67 – 7.64 (m, 4H), 7.57 – 7.53 (m, 1H), 7.42 – 7.31 (m, 8H), 5.78 (ddt, J = 17.5, 10.1, 7.5 Hz, 1H), 5.05 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 5.00 (ddd, J = 19.0, 13.5, 2.1 Hz, 2H), 4.87 (d, J = 6.9 Hz, 1H), 4.16 (q, 2H), 3.92 – 3.84 (dd, 2H), 3.81 (ddd, J = 8.8, 5.0, 3.1 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 6.8, 3.4 Hz, 1H), 3.64 – 3.61 (m, 1H), 3.5 – 3.45 (m, 2H), 3.34 (s, 3H), 2.30 (dd, J = 13.9, 7.3 Hz, 1H), 2.17 (dd, J = 13.9, 7.7 Hz, 1H), 1.03 (s, 9H), 1.00 (s, 3H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 135.7, 133.9, 133.26, 133.23, 133.0, 130.4, 129.89, 129.85, 129.6, 128.4, 127.87, 127.85, 118.3, 97.2, 82.9, 71.8, 68.5, 67.9, 64.9, 59.1, 40.7, 39.2, 26.9, 19.4, 19.2 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z [M+Na]⁺ calcd for C₃₅H₄₆O₆SiNa: 613.2961; found 613.2956 (–0.01 ppm).



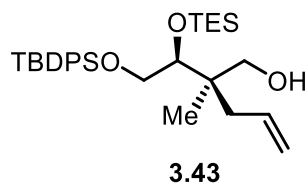
(–)-(2S)-Methyl 2-((S)-3,3-diethyl-9,9-dimethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxo-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylpent-4-enoate (3.42)



To a solution of alcohol **3.41**¹³¹ (2.5 g, 5.9 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (29 mL, 0.20 M) at 0 °C, imidazole (997 mg, 14.6 mmol, 2.5 equiv.) and TESCl (2.0 mL, 12 mmol, 2.0 equiv.) were added.

The mixture was stirred at room temperature for 16 hours. The reaction mixture was then treated with a saturated aqueous solution of NH_4Cl , followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 50 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 95:5) to provide methyl ester **3.42** (2.8 g, 87 %) as a colorless oil: $R_f = 0.43$ (Hexanes/EtOAc, 95:5); $[\alpha]_D^{25} -27$ (c 0.68, CH_2Cl_2); **Formula**: $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{Si}_2$; **MW**: 540.89 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3073, 3051, 2954, 2879, 1738, 1109, 1089, 737, 704 cm^{-1} ; **^1H NMR** (500 MHz, CDCl_3) δ 7.66 – 7.63 (m, 4H), 7.44 – 7.36 (m, 6H), 5.71 – 5.63 (m, 1H), 5.02 (s, 1H), 4.99 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 4.15 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 3.52 (d, $J = 5.9$ Hz, 2H), 3.46 (s, 3H), 2.39 (dd, $J = 13.6, 7.3$ Hz, 1H), 2.25 (dd, $J = 13.3, 7.7$ Hz, 1H), 1.06 (s, 3H), 1.04 (s, 9H), 0.89 (t, $J = 7.9$ Hz, 9H), 0.56 (q, $J = 8.0$ Hz, 6H) ppm; **^{13}C NMR** (126 MHz, CDCl_3) δ 175.5, 135.8, 135.8, 134.3, 133.5, 133.3, 129.8, 129.8, 127.8, 127.75, 118.0, 77.3, 66.4, 51.5, 50.6, 42.1, 27.0, 19.3, 14.6, 7.0, 5.3 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{49}\text{O}_4\text{Si}_2$: 541.3169; found 541.3167 (+0.91 ppm).

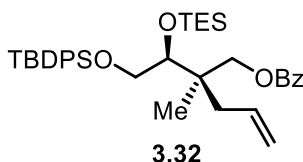
(+)-(R)-2-((S)-3,3-diethyl-9,9-dimethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxa-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylpent-4-en-1-ol (3.43)



To a solution of methyl ester **3.42** (2.0 g, 3.7 mmol, 1.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (19 mL, 0.20 M) at -40 °C, DIBAL-H (1.0 M in hexanes, 9.3 mL, 2.5 equiv.) was added. The mixture was stirred for 2 hours at -40 °C or until the ester was completely consumed, as verified by TLC. The reaction mixture was treated first with the dropwise addition of methanol (0.60 mL, 15 mmol, 4.0 equiv) at -40 °C, followed by a saturated potassium sodium tartrate solution (Rochelle's salt) and Et_2O . The mixture was stirred at room temperature until clarification of phases followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 x 50 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 80:20) to provide alcohol **3.43** (1.9 g, 99 %) as a colorless oil: $R_f = 0.45$

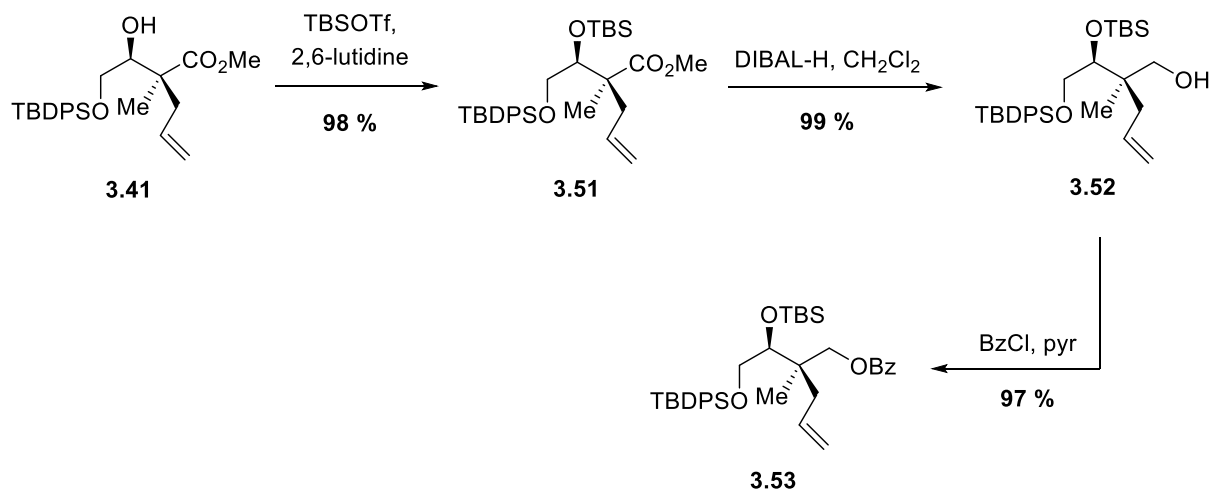
(Hexanes/EtOAc, 90:10); $[\alpha]^{25}_D +7.4$ (c 1.1, CH₂Cl₂); **Formula:** C₃₀H₄₈O₃Si₂; **MW:** 512.88 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3461, 3072, 3051, 2955, 2934, 2877, 1467, 1109, 1050, 1004, 734, 703 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.70 – 7.68 (m, 4H), 7.47 – 7.40 (m, 6H), 5.83 – 5.77 (m, 1H), 5.05 – 4.98 (m, 2H), 3.80 (dd, $J = 10.9, 5.8$ Hz, 1H), 3.72 (dd, $J = 5.5, 4.4$ Hz, 1H), 3.58 (dd, $J = 10.9, 4.3$ Hz, 1H), 3.54 (dd, $J = 11.5, 6.3$ Hz, 1H), 3.42 (dd, $J = 11.4, 6.2$ Hz, 1H), 3.20 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 2.16 (dd, $J = 13.6, 7.4$ Hz, 1H), 1.99 (dd, $J = 13.6, 7.5$ Hz, 1H), 1.09 (s, 9H), 0.89 (t, $J = 8.0$ Hz, 9H), 0.87 (s, 3H), 0.54 (q, $J = 7.9$ Hz, 6H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 135.90, 135.85, 134.7, 132.96, 132.88, 130.04, 130.02, 127.92, 127.91, 117.7, 79.6, 68.1, 66.0, 42.1, 39.1, 27.0, 19.2, 18.4, 7.0, 5.1 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z [M+Na]⁺ calcd for C₃₀H₄₈O₃Si₂Na : 535.3039; found 535.3031 (–0.63 ppm).

(+)-(R)-2-((S)-3,3-diethyl-9,9-dimethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxa-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylpent-4-en-1-yl benzoate (3.32)

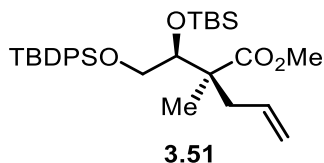


To a solution of alcohol **3.43** (1.0 g, 2.0 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (6.0 mL, 0.20 M), DMAP (24 mg, 0.20 mmol, 0.10 equiv.), pyridine (0.50 mL, 5.9 mmol, 3.0 equiv.) and BzCl (0.29 mL, 2.5 mmol, 1.3 equiv.) were added at 0 °C. The reaction was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. Ethylene diamine (98 μ L, 1.5 mmol, 0.7 equiv.) was added and the mixture was stirred for 1 hour at 0 °C. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 95:5) to provide alkene **3.32** as a colorless oil (1.2 g, 97 %): $R_f = 0.25$ (Hexanes/Et₂O, 95:5); $[\alpha]^{25}_D +6.3$ (c 1.0, CH₂Cl₂); **Formula:** C₃₇H₅₂O₄Si₂; **MW:** 616.99 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2955, 2933, 2876, 1721, 1470, 1428, 1314, 1270 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (dd, $J = 8.2, 1.2$ Hz, 2H), 7.69 – 7.66 (m, 4H), 7.57 – 7.54 (m, 1H), 7.44 – 7.34 (m, 8H), 5.83 – 5.74 (m, 1H), 5.02 – 4.94 (m, 2H), 4.19 (s, 2H), 3.87 (dt, $J = 13.5, 4.3$ Hz, 2H), 3.64 (dd, $J = 9.6, 4.3$ Hz, 1H), 2.27 (dd, $J = 13.9, 7.4$ Hz, 1H), 2.11 (dd, $J = 13.9, 7.6$ Hz, 1H), 1.07 (s, 9H), 0.94 (s, 3H), 0.91 (t, $J = 7.9$ Hz, 9H), 0.59 (qd, $J = 7.9, 2.7$ Hz, 6H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 135.9, 135.8, 134.4, 133.5, 133.4, 132.9, 130.6, 129.9, 129.8, 129.6,

128.5, 127.81, 127.80, 117.9, 77.7, 68.6, 66.6, 41.6, 38.7, 27.1, 19.2, 19.0, 7.1, 5.3 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z $[M+Na]^+$ calcd for $C_{37}H_{52}O_4Si_2Na$: 639.3302; found 639.3303 (+1.08 ppm).



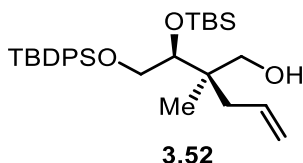
(-)-(S)-Methyl 2-((S)-2,2,3,3,9,9-hexamethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxo-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylpent-4-enoate (3.51)



To a solution of alcohol **3.41** (2.8 g, 6.6 mmol, 1.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (33 mL, 0.20 M) at 0°C , 2,6-lutidine (1.9 mL, 16.4 mmol, 2.5 equiv.) and TBSOTf (3.0 mL, 13 mmol, 2.0 equiv.) were added. The mixture was stirred at room temperature for 16 hours and was then treated with a saturated aqueous solution of NH_4Cl , followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with CH_2Cl_2 (3 x 50 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 95:5) to provide methyl ester **3.51** (3.5 g, 98 %) as a colorless oil: $R_f = 0.45$ (Hexanes/EtOAc, 95:5); $[\alpha]^{25}_D -6.6$ (c 1.5, CH_2Cl_2); **Formula**: $C_{31}H_{48}O_4Si_2$; **MW**: 540.89 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3073, 2952, 2931, 2889, 2858, 1741, 1428 cm^{-1} ; **$^1\text{H NMR}$** (500 MHz, CDCl_3) δ 7.67 – 7.63 (m, 4H), 7.42 – 7.36 (m, 6H), 5.72 – 5.63 (m, 1H), 5.02 – 4.99 (m, 2H), 4.11 (t, $J = 5.9$ Hz, 1H), 3.53 (dd, $J = 5.8, 3.7$ Hz, 2H), 3.46

(s, 3H), 2.38 (dd, $J = 13.3, 7.1$ Hz, 1H), 2.25 (dd, $J = 13.6, 8.0$ Hz, 1H), 1.08 (s, 3H), 1.04 (s, 9H), 0.82 (s, 9H), 0.05 (s, 3H), -0.08 (s, 3H) ppm; $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 175.4, 135.84, 135.80, 134.3, 133.5, 133.3, 129.83, 129.80, 127.83, 127.77, 118.0, 77.3, 66.3, 51.6, 50.7, 42.3, 27.0, 26.0, 19.3, 18.3, 14.8, $-3.9, -4.7$ ppm; **HRMS** (ESI+) m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calcd for $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{Si}_2\text{Na}$: 563.2989; found 563.2983 (-0.13 ppm).

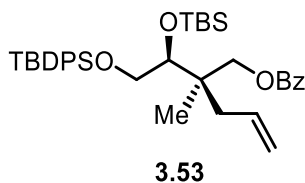
(+)-(R)-2-((S)-2,2,3,3,9,9-hexamethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxa-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylpent-4-en-1-ol (3.52)



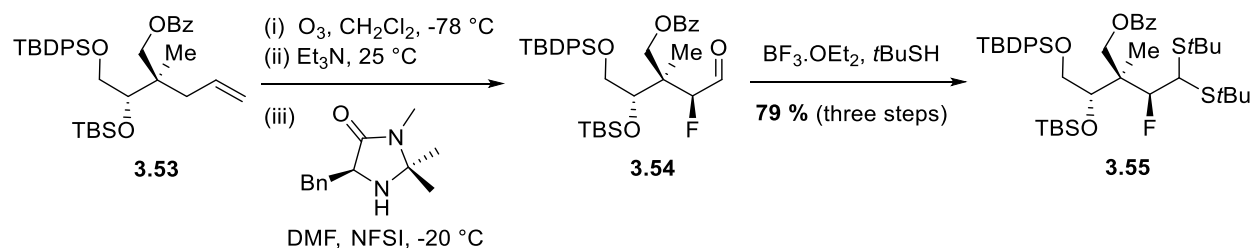
To a solution of methyl ester **3.51** (2.2 g, 4.1 mmol, 1.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (20 mL, 0.20 M) at -40 °C, DIBAL-H (1.0 M in hexanes, 10 mL, 2.5 equiv.) was added. The mixture was stirred for 2 hours at -40 °C or until the ester was completely consumed, as verified by TLC. The reaction mixture was treated first with the dropwise addition of methanol (0.66 mL, 16 mmol, 4.0 equiv.) at -40 °C, followed by a saturated potassium sodium tartrate solution (Rochelle's salt) and Et_2O . The mixture was stirred at room temperature until clarification of phases followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3 x 50 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/ EtOAc , 80:20) to provide alcohol **3.52** (2.1 g, 99 %) as a colorless oil: $R_f = 0.42$ (Hexanes/ EtOAc , 90:10); $[\alpha]_D^{25} +7.1$ (c 1.1, CH_2Cl_2); **Formula**: $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{Si}_2$; **MW**: 512.88 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2955, 2930, 2857, 1471, 1428, 1390, 1361, 1253 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.69 – 7.66 (m, 4H), 7.46 – 7.38 (m, 6H), 5.84 – 5.76 (m, 1H), 5.05 – 4.97 (m, 2H), 3.78 (dd, $J = 10.9, 6.4$ Hz, 1H), 3.65 (dd, $J = 6.4, 3.6$ Hz, 1H), 3.58 (d, $J = 3.7$ Hz, 1H), 3.55 (dd, $J = 6.5, 5.1$ Hz, 1H), 3.48 (dd, $J = 11.5, 6.5$ Hz, 1H), 3.14 (t, $J = 6.4$ Hz, 1H), 2.16 (dd, $J = 13.6, 7.4$ Hz, 1H), 2.04 (dd, $J = 13.6, 7.5$ Hz, 1H), 1.07 (s, 9H), 0.86 (s, 3H), 0.82 (s, 9H), 0.02 (s, 3H), -0.19 (s, 3H) ppm; $^{13}\text{C NMR}$ (126 MHz, CDCl_3) δ 135.94, 135.88, 134.8, 132.8, 132.7, 130.1, 127.97, 127.95, 117.7, 78.7, 67.6, 65.8,

42.5, 39.6, 27.1, 26.0, 19.2, 18.2, 1.2, -4.0, -4.9 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z $[M+Na]^+$ calcd for $C_{30}H_{48}O_3Si_2Na$: 535.3039; found 535.3037 (-0.55 ppm).

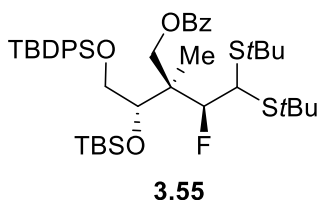
(+)-(R)-2-((S)-2,2,3,3,9,9-hexamethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxa-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylpent-4-en-1-yl benzoate (3.53)



To a solution of alcohol **3.52** (1.0 g, 2.0 mmol, 1.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (6.0 mL, 0.20 M), DMAP (24 mg, 0.2 mmol, 0.10 equiv.), pyridine (0.50 mL, 5.9 mmol, 3.0 equiv.) and BzCl (0.29 mL, 2.5 mmol, 1.3 equiv.) were added at 0 °C. The mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. Ethylene diamine (98 μ L, 1.5 mmol, 0.7 equiv.) was added and the mixture was stirred for 1 hour at 0 °C. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/ Et_2O , 90:10) to provide alkene **3.53** as a colorless oil (1.2 g, 97 %): R_f = 0.25 (Hexanes/ Et_2O , 90:10); $[\alpha]^{25}_D$ +6.8 (*c* 1.0, CH_2Cl_2); **Formula:** $C_{37}H_{52}O_4Si_2$; **MW:** 616.99 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2955, 2929, 2857, 1721, 1471, 1428, 1270 cm^{-1} ; **1H NMR** (500 MHz, $CDCl_3$) δ 8.00 – 7.98 (m, 2H), 7.69 – 7.65 (m, 4H), 7.58 – 7.53 (m, 1H), 7.44 – 7.33 (m, 8H), 5.83 – 5.74 (m, 1H), 5.03 – 4.94 (m, 2H), 4.19 (q, J = 15.3 Hz, 2H), 3.87 (dd, J = 10.9, 4.7 Hz, 1H), 3.81 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 3.63 (dd, J = 10.9, 4.9 Hz, 1H), 2.27 (dd, J = 13.9, 7.3 Hz, 1H), 2.12 (dd, J = 13.9, 7.7 Hz, 1H), 1.05 (s, 9H), 0.94 (s, 3H), 0.85 (s, 9H), 0.02 (s, 3H), -0.04 (s, 3H) ppm; **^{13}C NMR** (126 MHz, $CDCl_3$) δ 166.5, 135.91, 135.86, 134.5, 133.42, 133.36, 132.9, 130.6, 129.89, 129.85, 129.6, 128.5, 127.84, 127.82, 117.9, 77.4, 68.8, 66.5, 41.7, 38.7, 27.1, 26.1, 19.3, 18.4, -3.7, -5.0 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z $[M+Na]^+$ calcd for $C_{37}H_{52}O_4Si_2Na$: 639.3302; found 639.3306 (+1.53 ppm).



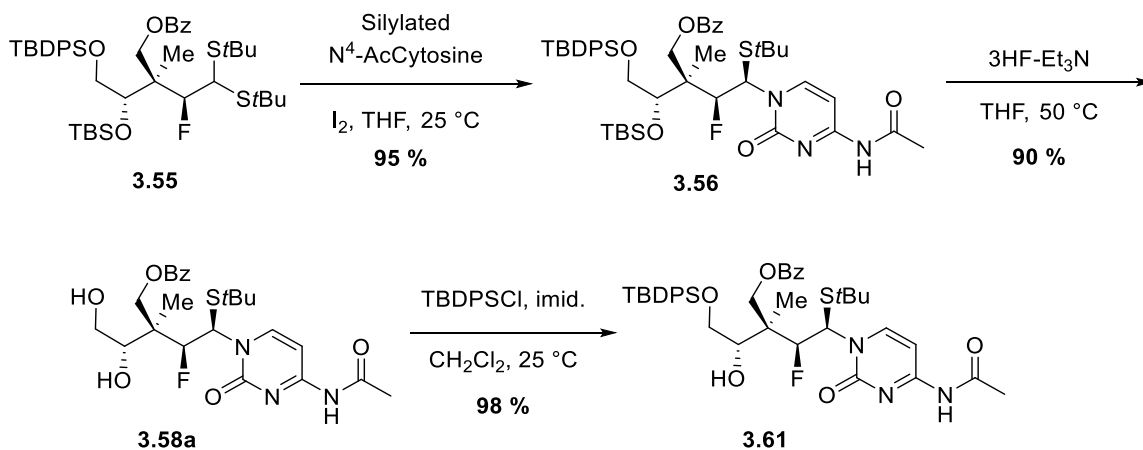
(-)-(2*R*,3*S*)-4,4-bis(*tert*-butylthio)-3-fluoro-2-((*S*)-2,2,3,3,9,9-hexamethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxa-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylbutyl benzoate (3.55**)**



To a solution of alkene **3.53** (3.1 g, 5.0 mmol, 1.0 equiv.) in CH_2Cl_2 (50 mL, 0.10 M) at $-78\text{ }^\circ\text{C}$, O_3 was bubbled through the solution until it turned pale blue (about 20 minutes). The mixture was then purged with nitrogen to remove excess ozone. After addition of Et_3N (1.4 mL, 10 mmol, 7.0 equiv.), the mixture was warmed to room temperature for 1 hour and concentrated. Filtration over a silica pad (Hexanes/ EtOAc , 80:20), provided the crude aldehyde as a light yellow oil (2.9 g, 93 % crude). To the (*S*)-imidazolidinone catalyst (1.33 g, 6.08 mmol, 1.30 equiv.) at $-40\text{ }^\circ\text{C}$, the crude aldehyde (2.9 g, 4.7 mmol, 1.0 equiv.) was added as a solution in anhydrous DMF (4.7 mL, 1.0 M). After stirring for 10 minutes, NFSI (1.6 g, 4.9 mmol, 1.05 equiv.) was added. Once homogeneous, it was left at $-20\text{ }^\circ\text{C}$ for 72 hours. The reaction mixture was diluted with Et_2O and water (10 mL) and treated with Me_2S (0.7 mL, 9.4 mmol, 2.0 equiv.). The aqueous layer was extracted with Et_2O ($3 \times 10\text{ mL}$) and the combined organic layers were washed with 1 N HCl (to remove the catalyst), a saturated solution of NaHCO_3 , brine, dried over MgSO_4 , filtered and concentrated *in vacuo*. ^1H NMR spectroscopic analysis of the unpurified C2–F aldehyde **3.54** indicated a $\sim 17:1$ diastereomeric ratio for the fluorination. To the crude C2–F aldehyde **3.54** in anhydrous CH_2Cl_2 (20 mL, 0.20 M) at $-60\text{ }^\circ\text{C}$, $t\text{BuSH}$ (1.4 mL, 13 mmol, 3.2 equiv.) and $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0.65 mL, 12 mmol, 1.3 equiv.) were added. The mixture was stirred at $-60\text{ }^\circ\text{C}$ for 5 hours. Upon

addition of Et₃N (2.8 mL, 20 mmol, 5.0 equiv.) stirring at –60 °C was maintained for 15 minutes. A saturated solution of NaHCO₃ (20 mL) was added and the aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 × 20 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (Hexanes/EtOAc, 90:10), provided dithioacetal **3.55** as a white foam (2.4 g, 85 % for three steps): **R_f** = 0.38 (Hexanes/EtOAc, 90:10); [**α**]_D²⁵ –71 (c 1.1, CH₂Cl₂); **Formula**: C₄₄H₆₇FO₄S₂Si₂; **MW**: 799.30 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2956, 2930, 2858, 1720, 1472, 1363 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.02 – 7.99 (m, 2H), 7.61 – 7.58 (m, 4H), 7.55 – 7.51 (m, 1H), 7.43 – 7.34 (m, 5H), 7.31 – 7.27 (m, 3H), 5.03 (d, *J* = 43.3 Hz, 1H), 4.70 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.44 (d, *J* = 11.7 Hz, 1H), 4.38 (t, *J* = 4.9 Hz, 1H), 4.26 (dd, *J* = 26.6, 1.5 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 11.2, 5.3 Hz, 1H), 3.63 (dd, *J* = 11.3, 4.6 Hz, 1H), 1.37 (s, 9H), 1.34 (s, 9H), 1.09 (s, 3H), 0.98 (s, 9H), 0.82 (s, 9H), 0.10 (s, 3H), –0.08 (s, 3H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 166.6, 135.9, 135.8, 133.2, 133.1, 132.7, 131.1, 129.9, 129.8, 128.4, 127.81, 127.78, 99.8 (d, *J* = 186.8 Hz), 73.2, 66.3 (d, *J* = 34.8 Hz), 46.4 (dd, *J* = 20.1, 13.8 Hz), 44.3, 32.0, 31.5, 27.1, 26.1, 19.2, 18.3, 15.3 (d, *J* = 6.7 Hz), –4.3, –4.9 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₄₄H₆₇FO₄S₂Si₂Na : 821.3901; found 821.3902 (+0.73 ppm).

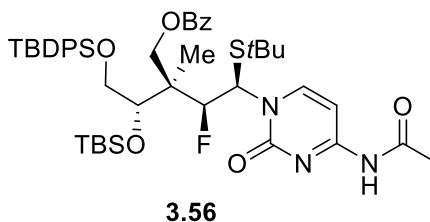
C2–F aldehyde 3.54 (crude): **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 9.79 (dd, *J* = 6.9, 1.4 Hz, 1H), 7.99 – 7.95 (m, 2H), 7.70 – 7.66 (m, 4H), 7.61 – 7.55 (m, 1H), 7.48 – 7.34 (m, 8H), 4.78 (dd, *J* = 47.8, 1.4 Hz, 1H), 4.55 (dd, *J* = 11.5, 2.2 Hz, 1H), 4.43 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H), 3.94 – 3.82 (m, 2H), 3.58 (dd, *J* = 10.8, 3.9 Hz, 1H), 1.09 (s, 9H), 0.82 (d, *J* = 1.3 Hz, 3H), 0.80 (s, 9H), 0.01 (s, 3H), –0.15 (s, 3H) ppm.



Preparation of silylated N⁴-acetylcytosine

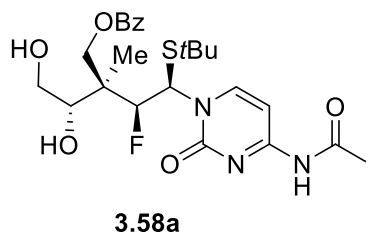
To a suspension of the nucleobase in HMDS (2.50 equiv.) under inert atmosphere was added (NH₄)₂SO₄ (0.10 equiv.). The reaction mixture was refluxed at 180 °C until a clear solution was obtained (typically three hours for pyrimidine nucleobases). Upon cooling to room temperature, the solution was placed under high vacuum for ~1 hour to remove excess HMDS. A solution of the silylated nucleobase was made in CH₂Cl₂ (0.50 M) and transferred to an Aldrich bottle.

(+)-(2*R*,3*S*)-4-(4-acetamido-2-oxypyrimidin-1(2*H*)-yl)-4-(*tert*-butylthio)-3-fluoro-2-((*S*)-2,2,3,3,9,9-hexamethyl-8,8-diphenyl-4,7-dioxa-3,8-disiladecan-5-yl)-2-methylbutyl benzoate (3.56)



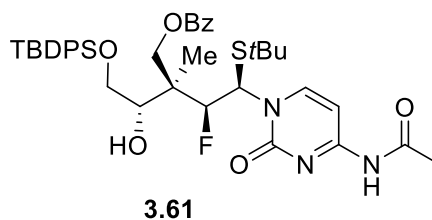
To a fresh solution of silylated N⁴-AcCytosine (22.3 mL, 11.2 mmol, 3.50 equiv. of a 0.50 M solution in CH₂Cl₂), and I₂ (1.62 g, 6.38 mmol, 2.00 equiv.), a solution of dithioacetal **3.55** (2.55 g, 3.20 mmol, 1.00 equiv.) in anhydrous THF (32 mL, 0.10 M) was added. The mixture was stirred at room temperature for 16 hours and was then treated with a saturated solution of Na₂S₂O₃ (20 mL). The aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3 x 30 mL) and the combine organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. ¹H NMR spectroscopic analysis of the unpurified product indicated the formation of only the 1',2'-*syn* diastereomer. Purification by flash chromatography (Hexanes/EtOAc, 20:80) provided thioaminal **3.56** (2.6 g, 95 %) as a white foam: *R*_f = 0.58 (Hexanes/EtOAc, 20:80); [α]²⁵_D +19 (c 1.5, CDCl₃); **Formula**: C₄₆H₆₄FN₃O₆SSi₂; **MW**: 862.26 g/mol; **IR** (neat) *v*_{max} 2957, 2930, 2858, 1723, 1665, 1494, 1429, 1375, 1272 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.97 (s, 1H), 8.33 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 8.02 (appd, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.57 (appt, *J* = 7.1 Hz, 5H), 7.46 – 7.34 (m, 6H), 7.29 – 7.24 (m, 3H), 6.35 (appd, *J* = 30.5 Hz, 1H), 4.83 – 4.71 (m, 2H), 4.40 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 4.32 (appt, *J* = 4.9 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 11.2, 5.4 Hz, 1H), 3.62 (dd, *J* = 11.3, 4.7 Hz, 1H), 2.23 (s, 3H), 1.20 (s, 9H), 1.14 (s, 3H), 0.96 (s, 9H), 0.72 (s, 9H), –0.05 (s, 3H), –0.10 (s, 3H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 171.3, 170.4, 166.2, 162.4, 155.1, 147.5, 135.8, 135.7, 133.2, 132.9, 132.8, 130.9, 129.9, 129.8, 129.7, 128.5, 127.82, 127.80, 100.6, 99.9(d, *J* = 188.1 Hz), 96.9, 72.9 (d, *J* = 5.3 Hz), 65.7 (d, *J* = 66.7 Hz), 60.5, 59.9 (d, *J* = 20.2 Hz), 45.2 (d, *J* = 16.3 Hz), 45.0, 30.9, 26.9, 26.0, 25.1, 19.2, 18.3, 14.4, 13.9 (d, *J* = 7.2 Hz), –4.0, –5.5 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₄₆H₆₄FN₃O₆SSi₂Na : 884.3936; found 884.3924 (–0.79 ppm).

(+)-(2*R*,3*S*)-4-(4-acetamido-2-oxopyrimidin-1(2*H*)-yl)-4-(*tert*-butylthio)-2-((*S*)-1,2-dihydroxyethyl)-3-fluoro-2-methylbutyl benzoate (3.58a)



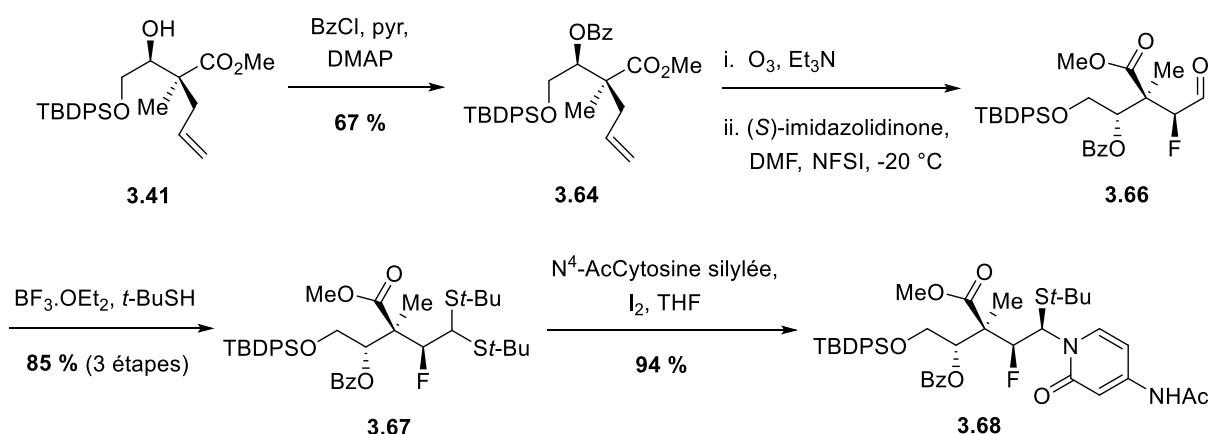
To a solution of thioaminal **3.56** (0.5 g, 0.59 mmol, 1.0 equiv.) in anhydrous THF (3.6 mL, 0.15 M) in a plastic vial at 0 °C, 3HF-Et₃N (0.49 mL, 5.0 equiv., ~70 % HF) was added. The mixture was stirred for 36 hours at 50 °C. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10) to provide diol **3.58a** as a white foam (270 mg, 90 %): *R_f* = 0.38 (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10); [α]²⁵_D +47 (c 1.6, CD₃OD); **Formula:** C₂₄H₃₂FN₃O₆S; **MW:** 509.59 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2964, 1718, 1645, 1490, 1369, 1269 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.50 (dd, *J* = 7.5, 1.6 Hz, 1H), 8.01 (dd, *J* = 8.4, 1.3 Hz, 2H), 7.62 – 7.59 (m, 1H), 7.51 – 7.46 (m, 3H), 6.57 (appd, *J* = 31.0 Hz, 1H), 4.94 (appd, *J* = 46.0 Hz, 1H), 4.49 (appdd, *J* = 114.2, 11.9 Hz, 2H), 4.09 (dd, *J* = 8.2, 3.1 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 11.3, 3.2 Hz, 1H), 3.63 (dd, *J* = 11.3, 8.2 Hz, 1H), 2.17 (s, 3H), 1.27 (s, 9H), 1.23 (s, 3H) ppm. *Labile protons could not be observed*; **¹³C NMR** (126 MHz, CD₃OD) δ 173.0, 167.6, 164.3, 157.9, 148.64, 148.62, 134.3, 131.4, 130.6, 129.6, 101.4 (d, *J* = 186.1 Hz), 98.7, 73.2 (d, *J* = 4.9 Hz), 66.6 (d, *J* = 3.6 Hz), 63.7, 62.0 (d, *J* = 20.0 Hz), 45.8 (d, *J* = 16.6 Hz), 31.2, 24.5, 14.3 (d, *J* = 5.8 Hz) ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₄H₃₂FN₃O₆SNa: 532.1893; found 532.1894 (+1.17 ppm).

(+)-(2*R*,3*S*)-4-(4-acetamido-2-oxopyrimidin-1(2*H*)-yl)-2-((*S*)-2-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-1-hydroxyethyl)-4-(*tert*-butylthio)-3-fluoro-2-methylbutyl benzoate (3.61**)**

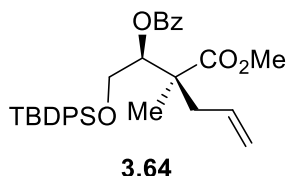


To a solution of diol **3.58a** (400 mg, 0.79 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (7.9 mL, 0.10 M) at 0 °C, imidazole (134 mg, 1.98 mmol, 2.5 equiv.) and TBDPSCI (0.31 mL, 1.2 mmol, 1.5 equiv.) were added. The mixture was stirred at room temperature for 16 hours and was then treated with a saturated aqueous solution of NH₄Cl, followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 20 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 20:80) to provide alcohol **3.61** (0.58 g, 98 %) as a white foam. *R_f* = 0.45 (Hexanes/EtOAc, 20:80); [α]²⁵_D +31

(*c* 1.0, CDCl₃); **Formula:** C₄₀H₅₀FN₃O₆SSi; **MW:** 748.00; **IR** (neat) ν_{\max} 3071, 2959, 2930, 2857, 1721, 1662, 1494, 1373, 1270 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.45 (s, 1H), 8.42 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.88 (appd, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.62 – 7.56 (m, 5H), 7.44 – 7.29 (m, 8H), 7.20 (appt, *J* = 7.5 Hz, 2H), 6.63 (appd, *J* = 32.1 Hz, 1H), 4.90 (appd, *J* = 45.9 Hz, 1H), 4.51 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), 4.18 (dd, *J* = 12.1, 5.9 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J* = 10.2, 3.4 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 10.2, 8.0 Hz, 1H), 3.14 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 2.22 (s, 3H), 1.27 (s, 9H), 1.20 (s, 3H), 1.02 (s, 9H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 169.9, 166.1, 162.1, 155.4, 147.9, 135.6, 135.5, 133.2, 132.9, 132.7, 130.04, 130.00, 129.7, 128.6, 128.0, 127.9, 99.6 (d, *J* = 186.6 Hz), 96.7, 71.7 (d, *J* = 4.7 Hz), 65.6 (d, *J* = 4.8 Hz), 64.0, 61.1 (d, *J* = 19.7 Hz), 45.4, 44.4 (d, *J* = 16.6 Hz), 31.1, 27.0, 25.1, 19.3, 13.5 (d, *J* = 4.8 Hz) ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₄₀H₅₀FN₃O₆SSiNa : 770.3071; found 770.3070 (–0.51 ppm).



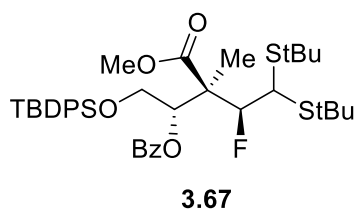
(–)-(2*S*,3*S*)-1-((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)-3-(methoxycarbonyl)-3-methylhex-5-en-2-yl benzoate (3.64)



To a solution of alcohol **3.41** (2.0 g, 4.7 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (28 mL, 0.20 M), DMAP (57 mg, 0.47 mmol, 0.10 equiv.), pyridine (1.1 mL, 14 mmol, 3.0 equiv.) and BzCl (1.1 mL, 9.4 mmol, 2.0 equiv.) were added at 0 °C. The mixture was then warmed to room temperature and

stirred for 16 hours. Ethylene diamine (0.6 mL, 9.4 mmol, 2.0 equiv.) was added and the mixture was stirred for 1 hour at 0 °C. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 90:10) to provide benzoylated methyl ester **3.64** as a colorless oil (1.7 g, 67 %): $R_f = 0.3$ (Hexanes/EtOAc, 90:10); $[\alpha]^{25}_D -5.1$ (c 1.3, CH₂Cl₂); **Formula:** C₃₂H₃₈O₅Si; **MW:** 530.74 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2950, 2932, 2857, 1724, 1451, 1428, 1270 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (dd, $J = 8.4, 13$ Hz, 2H), 7.64 – 7.57 (m, 5H), 7.49 – 7.45 (m, 2H), 7.42 – 7.30 (m, 6H), 5.74 (dd, $J = 7.7, 4.0$ Hz, 1H), 5.71 – 5.63 (m, 1H), 5.04 – 4.98 (m, 2H), 3.87 (dd, $J = 11.0, 7.7$ Hz, 1H), 3.77 (dd, $J = 11.0, 4.0$ Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.55 (dd, $J = 13.7, 7.0$ Hz, 1H), 2.20 (dd, $J = 13.7, 7.7$ Hz, 1H), 1.26 (s, 3H), 0.95 (s, 9H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 174.3, 165.8, 135.74, 135.68, 133.21, 133.19, 133.13, 133.0, 130.4, 129.89, 129.85, 129.77, 128.5, 127.82, 127.77, 118.8, 77.2, 63.2, 52.0, 49.2, 41.5, 26.7, 19.2, 17.0 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z [M+Na]⁺ calcd for C₃₂H₃₈O₅SiNa: 553.2386; found 553.2391 (+1.84 ppm).

(+)-(2S,3S,4S)-1-((tert-butylidiphenylsilyl)oxy)-5,5-bis(tert-butylthio)-4-fluoro-3-(methoxycarbonyl)-3-methylpentan-2-yl benzoate (3.67)

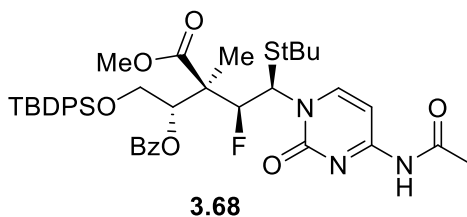


To a solution of benzoylated methyl ester **3.64** (1.15 g, 2.2 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (22 mL, 0.10 M) at –78 °C, O₃ was bubbled through the solution until it turned pale blue (about 20 minutes). The mixture was then purged with nitrogen to remove excess ozone. After addition of Et₃N (0.60 mL, 4.3 mmol, 2.0 equiv.), the mixture was warmed to room temperature for 1 hour and concentrated. Filtration over a silica Pad (Hexanes/EtOAc, 75:25), provided the crude aldehyde as a light yellow oil (1.1 g, 91 % crude). To the (*S*)-imidazolidinone catalyst (560 mg, 2.56 mmol, 1.30 equiv.) at –40 °C, the crude aldehyde (1.1 g, 1.97 mmol, 1.0 equiv.) as a solution in anhydrous DMF (2.0 mL, 1.0 M) was added. After stirring for 10 minutes, NFSI (653 mg, 2.07 mmol, 1.05 equiv.) was added. Once homogeneous, it was left at –20 °C for 72 hours. The reaction

mixture was diluted with Et₂O and water (10 mL) and treated with Me₂S (0.3 mL, 4 mmol, 2.0 equiv.). The aqueous layer was extracted with Et₂O (3 × 10 mL) and the combined organic layers were washed with 1 N HCl (to remove the catalyst), a saturated solution of NaHCO₃, brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. ¹H NMR spectroscopic analysis of the unpurified C2–F **3.66** aldehyde indicated a ~17:1 diastereomeric ratio for the fluorination. To the crude C2–F aldehyde **3.66** in anhydrous CH₂Cl₂ (9.5 mL, 0.20 M) at –60 °C, *t*BuSH (0.86 mL, 7.6 mmol, 4.0 equiv.) and BF₃.OEt₂ (0.60 mL, 4.7 mmol, 2.5 equiv.) were added. The mixture was stirred at –60 °C for 5 hours. Upon addition of Et₃N (1.1 mL, 7.6 mmol, 4.0 equiv.) stirring at –60 °C was maintained for 15 minutes. A saturated solution of NaHCO₃ (20 mL) was added and the aqueous layer was extracted with dichloromethane (3 × 20 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (Hexanes/EtOAc, 90:10), provided dithioacetal **3.67** as a white foam (1.2 g, 85 % for three steps): **R_f** = 0.38 (Hexanes/EtOAc, 90:10); **[α]²⁵_D** +87 (c 1.5, CH₂Cl₂); **Formula:** C₃₉H₅₃FO₅S₂Si; **MW:** 712.31 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2958, 2859, 1730, 1472, 1459, 1364, 1265 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.03 (dd, *J* = 8.3, 1.3 Hz, 2H), 7.61 – 7.56 (m, 5H), 7.45 – 7.42 (m, 2H), 7.39 – 7.36 (m, 2H), 7.32 – 7.27 (m, 4H), 6.03 (dd, *J* = 6.2, 4.1 Hz, 1H), 4.88 – 4.78 (dd, *J* = 44.2, 1.9 Hz, 1H), 4.33 – 4.27 (dd, *J* = 27.0, 2.0 Hz, 1H), 3.86 – 3.79 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.36 (s, 9H), 1.31 (s, 9H), 0.95 (s, 9H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 171.6, 164.9, 135.69, 135.65, 133.2, 133.1, 132.9, 130.2, 129.85, 129.81, 129.79, 128.5, 127.82, 127.79, 97.6 (d, *J* = 192.8 Hz), 73.7 (d, *J* = 5.5 Hz), 63.2, 52.4 (d, *J* = 18.1 Hz), 52.3, 46.0, 45.7 (d, *J* = 22.3 Hz), 44.3, 31.7, 31.4, 26.7, 19.2, 15.2 (d, *J* = 5.2 Hz) ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₉H₅₃FO₅S₂SiNa : 735.2985; found 735.2973 (–1.05 ppm).

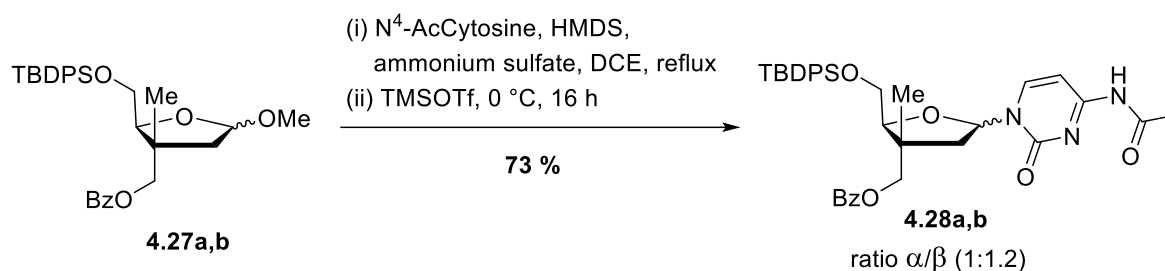
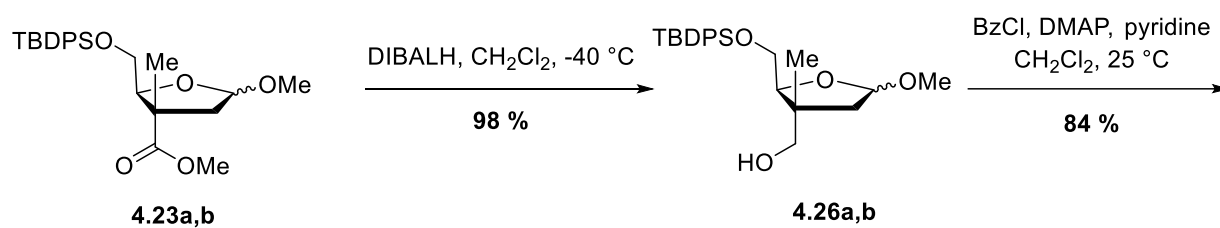
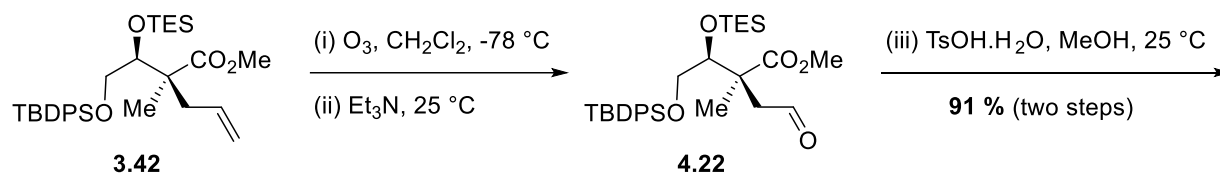
C2-F aldehyde 3.66 (crude): **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 9.83 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 8.00 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 2H), 7.67 – 7.55 (m, 5H), 7.46 (dd, *J* = 10.6, 4.8 Hz, 2H), 7.43 – 7.36 (m, 2H), 7.35 – 7.30 (m, 4H), 5.81 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 5.03 (d, *J* = 46.9 Hz, 1H), 3.95 (dd, *J* = 5.6, 0.9 Hz, 1H), 3.65 (s, 3H), 1.46 (d, *J* = 1.5 Hz, 3H), 0.96 (s, 9H) ppm.

(-)-(2S,3S,4S,5R)-5-(4-acetamido-2-oxypyrimidin-1(2H)-yl)-1-((tert-butyldiphenylsilyl)oxy)-5-(tert-butylthio)-4-fluoro-3-(methoxycarbonyl)-3-methylpentan-2-yl benzoate (3.68)

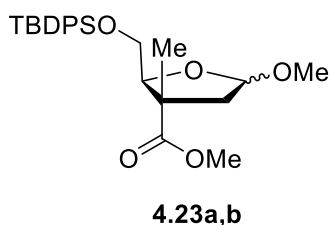


To a fresh solution of silylated N⁴-AcCytosine (2.1 mL, 11 mmol, 3.5 equiv. of a 0.50 M solution in CH₂Cl₂), and I₂ (0.15 g, 0.60 mmol, 2.0 equiv.), a solution of dithioacetal **3.67** (0.22 g, 0.30 mmol, 1.0 equiv.) in anhydrous THF (32 mL, 0.10 M) was added and stirred at room temperature for 16 hours. The reaction mixture was treated with a saturated solution of Na₂S₂O₃ (20 mL), and the aqueous layer was extracted with ethyl acetate (3 x 30 mL). The combine organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. ¹H NMR spectroscopic analysis of the unpurified product indicated the formation of only the 1,2-*syn* diastereomer. Purification by flash chromatography (Hexanes/EtOAc, 20:80) provided thioaminal **3.68** (0.22 g, 94 %) as a white foam: R_f = 0.45 (Hexanes/EtOAc, 20:80); [α]_D²⁵ -63 (c 1.5, CH₂Cl₂); **Formula:** C₄₁H₅₀FN₃O₇SSi; **MW:** 776.01 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 2959, 2931, 2859, 1729, 1662, 1621, 1558, 1492, 1429, 1376, 1312, 1266, 1243 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.28 (dd, *J* = 7.5, 1.4 Hz, 1H), 8.00 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.60 – 7.54 (m, 5H), 7.44 – 7.35 (m, 6H), 7.33 – 7.26 (m, 4H), 6.29 (appd, *J* = 31.6 Hz, 1H), 5.99 (dd, *J* = 6.5, 3.8 Hz, 1H), 4.51 (appd, *J* = 46.9 Hz, 1H), 3.82 (dd, *J* = 11.3, 6.7 Hz, 1H), 3.72 (dd, *J* = 11.3, 3.8 Hz, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 1.58 (s, 3H), 1.22 (s, 9H), 0.93 (s, 9H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 171.0, 170.8, 165.1, 163.1, 155.2, 147.5, 135.64, 135.58, 133.3, 132.9, 132.8, 130.0, 129.89, 129.86, 129.82, 128.6, 128.0, 127.8, 97.6, 96.7 (d, *J* = 196.2 Hz), 72.9 (d, *J* = 6.1 Hz), 63.1, 59.6 (d, *J* = 19.7 Hz), 52.4, 51.6 (d, *J* = 16.0 Hz), 45.0, 31.7, 30.8, 26.6, 24.7, 22.7, 19.1, 14.3 (d, *J* = 7.0 Hz) ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₄₁H₅₁FN₃O₇SSi : 776.3201; found 776.3204 (+1.55 ppm).

Partie expérimentale du chapitre 4



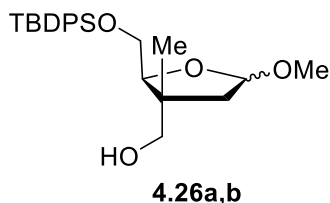
Methyl-(2*S*,3*S*)-2-(((*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy)methyl)-5-methoxy-3-methyltetrahydrofuran-3-carboxylate (4.23a,b)



To a solution of methyl ester **3.42** (2.5 g, 4.6 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (46 mL, 0.10 M) at -78 °C, O₃ was bubbled into the solution until it turned pale blue (about 20 minutes). The

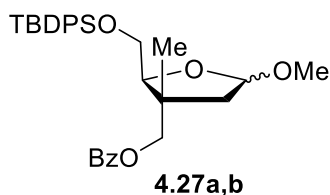
mixture was then purged with nitrogen to remove excess ozone. After addition of Et₃N (1.9 mL, 14 mmol, 3.0 equiv.), the mixture was warmed to room temperature for 1 hour and concentrated. Filtration over a silica pad (Hexanes/EtOAc, 80:20), provided the crude aldehyde **4.22** as a light yellow oil. To a solution of crude aldehyde **4.22** in MeOH (23 mL, 0.20 M), TsOH.H₂O (0.44 g, 2.3 mmol, 0.50 equiv.) was added and the reaction mixture was stirred for 20 minutes at room temperature. After total completion, Et₃N (1.3 mL, 9.2 mmol, 2.0 equiv.) was added and the mixture was concentrated *in vacuo*. Purification by flash chromatography (Hexanes/EtOAc, 80:20), provided a mixture of methyl glycosides **4.23a,b** in a (1:1) ratio as a colorless oil (1.9 g, 91 % for two steps): **R_f** = 0.25 (Hexanes/EtOAc, 80:20); **Formula**: C₂₅H₃₄O₅Si; **MW**: 442.63 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2952, 2932, 2858, 1734, 1463, 1428, 1251, 1196, 1111, 1079, 1040 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.70 – 7.65 (m, 8H), 7.45 – 7.35 (m, 12H), 5.04 (dd, *J* = 5.6, 3.2 Hz, 1H, *minor*), 5.01 (dd, *J* = 6.1, 2.2 Hz, 1H, *major*), 4.59 (t, *J* = 6.0 Hz, 1H, *minor*), 4.45 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, *major*), 3.82 – 3.70 (m, 1H, *minor*), 3.78 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H, *major*), 3.73 – 3.70 (m, 1H, *minor*), 3.69 (s, 3H, *OMe major*), 3.65 (s, 3H, *OMe minor*), 3.36 (s, 3H, *OMe minor*), 3.30 (s, 3H, *OMe major*), 2.69 (dd, *J* = 13.4, 6.1 Hz, 1H, *major*), 2.42 (dd, *J* = 13.5, 3.2 Hz, 1H, *minor*), 2.10 (dd, *J* = 13.5, 5.6 Hz, 1H, *minor*), 1.87 (dd, *J* = 13.4, 2.2 Hz, 1H, *major*), 1.40 (s, 3H, *Me major*), 1.23 (s, 3H, *Me minor*), 1.04 (s, 18H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 176.3, 175.4, 135.8, 135.7, 133.6, 133.5, 129.84, 129.83, 129.81, 127.83, 127.82, 127.80, 105.2, 104.3, 84.5, 81.5, 63.7, 63.0, 55.6, 55.4, 52.5, 52.3, 50.4, 50.2, 46.1, 44.9, 26.8, 19.3, 18.3, 18.0 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₅H₃₄O₅SiNa : 465.2073; found 465.2070 (–0.18 ppm).

((2*S*,3*R*)-2-(((tert-butyl-diphenylsilyl)oxy)methyl)-5-methoxy-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methanol (4.26a,b**)**



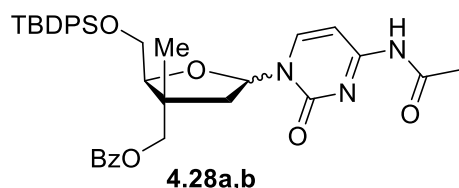
To a solution of methyl glycosides **4.23a,b** (1.3 g, 2.9 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (15 mL, 0.20 M) at -40 °C, DIBAL-H (1.0 M in toluene, 7.3 mL, 2.5 equiv.) was added. The mixture was stirred for 2 hours at -40 °C or until the ester was completely consumed, as verified by TLC. The reaction mixture was treated first with the dropwise addition of methanol (0.45 mL, 12 mmol, 4.0 equiv.) at -40 °C, followed by a saturated potassium sodium tartrate solution (Rochelle's salt) and Et₂O. The mixture was stirred at room temperature until clarification of phases followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with Et₂O (3 x 30 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 70:30) to provide the free C3' alcohols **4.26a,b** in a ratio of (1:1) as a colorless oil (1.2 g, 99 %): **R_f** = 0.43 (Hexanes/EtOAc, 70:30); **Formula**: C₂₄H₃₄O₄Si; **MW**: 414.62 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3459, 2956, 2931, 2858, 1589, 1472, 1428, 1390, 1105, 1043 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.70 – 7.66 (m, 8H), 7.44 – 7.39 (m, 12H), 4.97 (dd, *J* = 5.7, 3.0 Hz, 1H, *minor*), 4.89 (dd, *J* = 6.0, 1.4 Hz, 1H, *major*), 3.99 (dd, *J* = 7.9, 4.4 Hz, 1H, *minor*), 3.91 (dd, *J* = 8.8, 4.9 Hz, 1H, *major*), 3.79 – 3.60 (m, 6H), 3.51 (dd, *J* = 16.5, 8.7 Hz, 4H), 3.33 (s, 3H, *OMe minor*), 3.26 (s, 3H, *OMe major*), 2.03 (dd, *J* = 13.3, 6.0 Hz, 1H, *major*), 1.98 (dd, *J* = 13.7, 5.7 Hz, 1H, *minor*), 1.77 (dd, *J* = 13.6, 3.0 Hz, 1H, *minor*), 1.71 (dd, *J* = 13.3, 1.4 Hz, 1H, *major*), 1.25 (s, 3H, *Me major*), 1.09 (s, 3H, *Me minor*), 1.07 (s, 18H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 135.78, 135.75, 135.71, 132.9, 132.8, 132.7, 130.09, 130.08, 130.06, 128.0, 104.8, 103.9, 85.6, 83.1, 70.9, 70.0, 63.6, 63.0, 55.3, 55.2, 46.3, 45.5, 45.0, 43.8, 26.9, 19.3, 18.2, 17.7 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₂₄H₃₄O₄SiNa : 437.2124; found 437.2124 (+0.88 ppm).

((2*S*,3*R*)-2-(((tert-butylidiphenylsilyl)oxy)methyl)-5-methoxy-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate (4.27a,b)



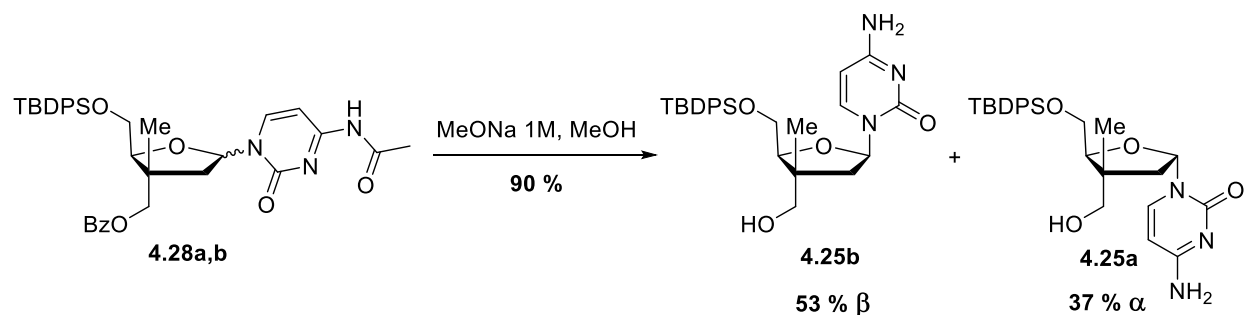
To a solution of alcohols **4.26a,b** (1.3 g, 3.1 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (19 mL, 0.20 M), DMAP (38 mg, 0.31 mmol, 0.10 equiv.), pyridine (0.76 mL, 9.4 mmol, 3.0 equiv.) and BzCl (0.73 mL, 6.3 mmol, 2.0 equiv.) were added at 0 °C. The mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. Ethylene diamine (0.21 mL, 3.1 mmol, 1.0 equiv.) was added and the mixture was stirred for 1 hour at 0 °C. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 80:20) to provide C3'-benzoylated methyl glycosides **4.27a,b** in a ratio of (1:1) as a colorless oil (1.4 g, 84 %): *R_f* = 0.41 (Hexanes/EtOAc, 80:20); **Formula:** C₃₁H₃₈O₅Si; **MW:** 518.73 g/mol; **IR** (neat) *v*_{max} 2931, 2857, 1790, 1720, 1451, 1428, 1268 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.03 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 2H, *major*), 8.00 (dd, *J* = 8.3, 1.2 Hz, 2H, *minor*), 7.70 – 7.68 (m, 8H), 7.59 – 7.55 (m, 2H), 7.45 – 7.34 (m, 16H), 5.07 (dd, *J* = 5.4, 3.1 Hz, 1H, *minor*), 4.99 (dd, *J* = 5.9, 2.2 Hz, 1H, *major*), 4.27 (q, *J* = 44.8 Hz, 2H, *minor*), 4.22 (q, *J* = 37.2 Hz, 2H, *major*), 4.11 – 3.79 (m, 6H), 3.38 (s, 3H, *OMe minor*), 3.31 (s, 3H, *OMe major*), 2.23 (dd, *J* = 13.6, 6.0 Hz, 1H, *major*), 2.03 (qd, *J* = 13.6, 4.3 Hz, 2H, *minor*), 1.83 (dd, *J* = 13.5, 2.2 Hz, 1H, *major*), 1.29 (s, 3H, *Me major*), 1.11 (s, 3H, *Me minor*), 1.06 (s, 18H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 166.5, 135.8, 135.75, 135.74, 135.73, 133.6, 133.5, 133.2, 133.1, 130.2, 129.9, 129.8, 129.7, 128.6, 128.5, 127.84, 127.82, 105.0, 104.2, 83.6, 81.9, 71.1, 70.6, 64.4, 63.8, 55.4, 55.2, 44.6, 44.2, 44.0, 43.6, 27.0, 19.33, 19.30, 18.8, 18.5 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+NH₄]⁺ calcd for C₃₁H₄₂NO₅Si: 536.2832; found 536.2833 (+1.18 ppm).

((2S,3R)-5-(4-acetamido-2-oxopyrimidin-1(2H)-yl)-2-(((tert-butylidiphenylsilyl)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzoate (4.28a,b)

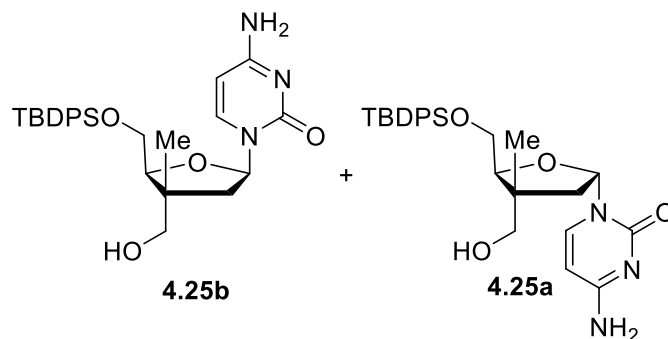


A solution of N⁴-acetylcytosine (74 mg, 0.48 mmol, 1.3 equiv.), (NH₄)₂SO₄ (0.10 equiv.) and HMDS (0.25 mL, 1.2 mmol, 3.0 equiv.) in 1,2-dichloroethane (2.9 mL, 0.13 M) was heated at reflux

under an argon atmosphere for 2 hours. The mixture was cooled to room temperature for 30 min and methyl glycosides **4.27a,b** (0.20 g, 0.39 mmol, 1.0 equiv.) in DCE (2.9 mL) was added. After refluxing for 1 hour, the mixture was cooled to room temperature and then to 0 °C. Trimethylsilyl triflate (0.17 mL, 0.96 mmol, 2.5 equiv.) in DCE (3.9 mL, 0.10 M) was added over a period of 5 minutes and the resulting solution was stirred for 16 hours at 0 °C. The reaction mixture was treated with a saturated solution of NaHCO₃ (15 mL), and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (15 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrated *in vacuo*. A (1:1.2 α/β -ratio) of the crude mixture was determined by ¹H NMR. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5), provided nucleoside analogues **4.28a,b** as a white foam (180 mg, 73 %): **R_f** = 0.46 (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5); **Formula**: C₃₆H₄₁N₃O₆Si; **MW**: 639.82 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2931, 2857, 1718, 1662, 1615, 1559, 1491, 1428, 1390, 1313, 1265, 1242 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 9.83 (s, 1H, *NH minor*), 9.32 (s, 1H, *NH major*), 8.15 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H, *minor*), 8.14 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, *major*), 8.0 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H, *major*), 7.90 (t, *J* = 6.9 Hz, 4H), 7.82 (d, *J* = 7.1 Hz, 1H, *minor*), 7.68 – 7.65 (m, 8H), 7.60 – 7.54 (m, 2H), 7.46 – 7.35 (m, 16H), 6.04 (t, *J* = 6.3 Hz, 1H, *minor*), 6.00 (t, *J* = 6.1 Hz, 1H, *major*), 4.27 – 4.13 (m, 6H), 3.96 (dd, *J* = 11.4, 4.3 Hz, 1H *minor*), 3.90 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H, *major*), 3.84 (dd, *J* = 11.4, 6.0 Hz, 1H, *minor*), 2.89 (dd, *J* = 14.1, 5.8 Hz, 1H, *major*), 2.77 (dd, *J* = 14.6, 5.8 Hz, 1H, *minor*), 2.27 (s, 3H, *minor*), 2.25 (s, 3H, *major*), 2.02 (dd, *J* = 13.9, 6.0 Hz, 1H, *minor*), 1.96 (dd, *J* = 14.1, 5.3 Hz, 1H, *major*), 1.17 (s, 3H, *Me minor*), 1.08 (s, 18H), 1.07 (s, 3H, *Me major*) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 171.4, 170.53, 170.49, 170.44, 169.8, 166.4, 166.1, 162.5, 162.4, 155.1, 144.3, 143.2, 135.8, 135.73, 135.67, 133.4, 133.3, 133.02, 132.98, 132.95, 132.7, 132.2, 130.29, 130.25, 130.22, 130.13, 130.11, 129.8, 129.74, 129.71, 129.6, 128.8, 128.7, 128.6, 128.4, 128.1, 128.0, 127.99, 127.5, 96.2, 96.0, 87.7, 87.3, 85.3, 85.1, 70.0, 69.1, 63.7, 63.4, 45.6, 44.9, 44.09, 44.07, 27.05, 26.95, 25.12, 25.10, 19.32, 19.27, 18.6, 17.9 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₆H₄₁N₃O₆SiNa : 662.2662; found 662.2656 (–1.75 ppm).



(+)-4-amino-1-((4*R*,5*S*)-5-(((tert-butyl)dimethylsilyloxy)methyl)-4-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2(1*H*)-one (4.25b**) and (-)-4-amino-1-((4*R*,5*S*)-5-(((tert-butyl)dimethylsilyloxy)methyl)-4-(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2(1*H*)-one (**4.25a**)**



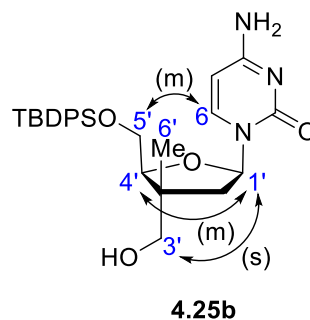
To a solution of protected nucleosides **4.28a,b** (140 mg, 0.22 mmol, 1.00 equiv.) in methanol (1.3 mL, 0.16 M), MeONa (1.0 M solution in MeOH, 0.24 mL, 1.10 equiv.) was added and the resulting mixture was stirred for 2 hours at room temperature. Amberlite IR-120 was then added and the solution was stirred for 10 minutes or until a neutral pH was obtained. The resin was filtered, rinsed with methanol and the filtrate was concentrate *in vacuo*. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10) with a low flow rate, provided the β -anomer **4.25b** (57 mg, 53 %) and the α -anomer **4.25a** (40 mg, 37 %) as white foams.

(4.25b, major):

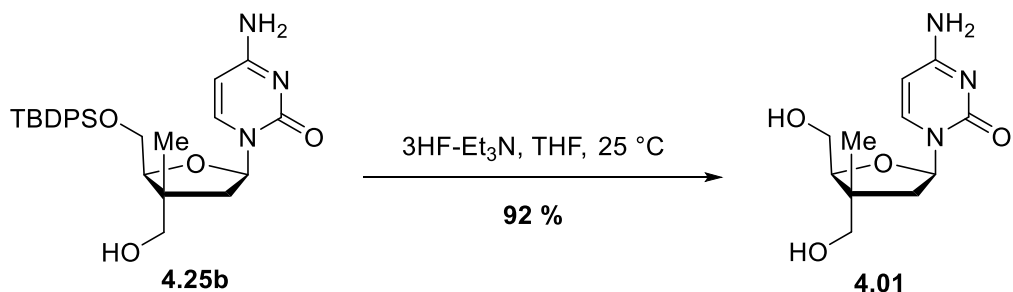
$R_f = 0.39$ (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D +50$ (c 1.0, MeOH); **Formula:** C₂₇H₃₅N₃O₄Si; **MW:** 493.68 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3346, 3196, 3071, 2959, 2931, 2858, 1773, 1643, 1527, 1487, 1360 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.90 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.72 – 7.68 (m, 4H), 7.47 – 7.39 (m, 6H), 5.99 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.63 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 4.03 (t, $J = 4.5$ Hz, 1H), 3.97 (dd, $J = 11.4, 3.8$ Hz, 1H), 3.81 (dd, $J = 11.4, 5.3$ Hz, 1H), 3.44 (s, 2H), 2.53 (dd, $J = 13.5, 6.4$ Hz, 1H), 1.73 (dd, $J = 13.4, 6.8$ Hz, 1H), 1.08 (s, 9H), 1.05 (s, 3H) ppm. *Labile protons were not observed*; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 167.5, 158.2, 142.1, 136.9, 136.7, 134.5, 134.0, 131.13, 131.09, 128.9, 95.6, 87.2, 85.4, 69.3, 65.5, 46.9, 44.1, 27.3, 20.1, 18.6 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z [M+Na]⁺ calcd for C₂₇H₃₅N₃O₄SiNa : 516.2294; found 516.2282 (–1.33 ppm).

NOESYH-1' and CH₂-3' (strong)

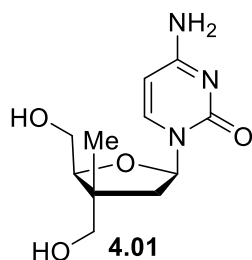
H-1' and H-4' (medium)

H-6 and CH₂-5' (medium)**(4.25a, minor):**

$R_f = 0.41$ (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10); $[\alpha]^{25}_D -36$ (c 1.0, MeOH); **Formula:** C₂₇H₃₅N₃O₄Si; **MW:** 493.68 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3338, 3197, 3071, 2958, 2930, 2857, 1644, 1608, 1527, 1486 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 7.72 – 7.69 (m, 5H), 7.45 – 7.39 (m, 6H), 6.05 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.91 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.27 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H), 3.85 (dd, $J = 11.0, 4.6$ Hz, 1H), 3.78 (dd, $J = 10.8, 5.2$ Hz, 1H), 3.45 (s, 2H), 3.35 (s, 1H), 2.33 (dd, $J = 13.5, 6.5$ Hz, 1H), 2.01 (dd, $J = 13.5, 6.7$ Hz, 1H), 1.06 (s, 9H), 1.03 (s, 3H) ppm. *Labile protons were not observed*; **¹³C NMR** (126 MHz, CD₃OD) δ 167.5, 158.0, 141.7, 136.79, 136.75, 134.36, 134.33, 130.99, 130.98, 128.86, 128.83, 95.8, 87.9, 85.8, 68.1, 65.1, 47.5, 45.2, 27.3, 20.0, 17.8 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z [M+Na]⁺ calcd for C₂₇H₃₅N₃O₄SiNa : 516.2294; found 516.2279 (–1.92 ppm).



(+)-4-amino-1-((2*R*,4*R*,5*S*)-4,5-bis(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2(1*H*)-one (4.01)



To a solution of β -nucleoside **4.25b** (38 mg, 0.08 mmol, 1.0 equiv.) in anhydrous THF (0.46 mL, 0.17 M) in a plastic vial at 0 °C, 3HF-Et₃N (25 μ L, 2.0 equiv., ~70 % HF) was added. The mixture was stirred for 16 hours at room temperature. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by reverse phase flash chromatography on silica gel (0 to 7 % MeOH in H₂O) to provide deprotected nucleoside analogue **4.01** as a white foam (18 mg, 92 %): **R_f** = 0.13 (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10); [α]_D²⁵ +86 (*c* 1.0, MeOH); **Formula**: C₁₁H₁₇N₃O₄; **MW**: 255.27 g/mol; **IR** (neat) ν_{max} 3342, 3207, 2931, 1646, 1612, 1488 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 8.11 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.98 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H), 5.92 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 3.96 (dd, *J* = 6.0, 3.9 Hz, 1H), 3.78 (dd, *J* = 11.7, 3.9 Hz, 1H), 3.71 (dd, *J* = 11.7, 6.0 Hz, 1H), 3.46 (s, 2H), 2.48 (dd, *J* = 13.5, 6.6 Hz, 1H), 1.75 (dd, *J* = 13.5, 6.7 Hz, 1H), 1.05 (s, 3H) ppm. *Labile protons were not observed*; **¹³C NMR** (126 MHz, CD₃OD) δ 167.4, 158.0, 142.6, 95.6, 87.2, 86.0, 69.2, 63.0, 46.8, 43.9, 18.3 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₁₈N₃O₄: 256.1297; found 256.1296 (−0.13 ppm).

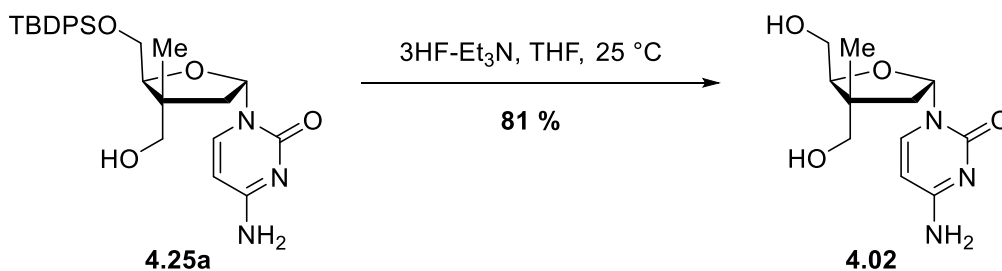
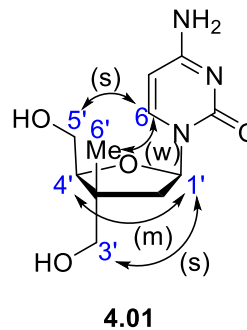
NOESY

H-1' and CH₂-3' (strong)

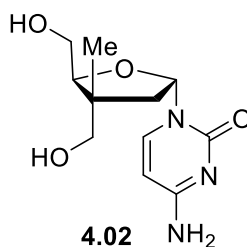
H-1' and H-4' (medium)

H-6 and CH₃-6' (weak)

H-6 and CH₂-5' (strong)

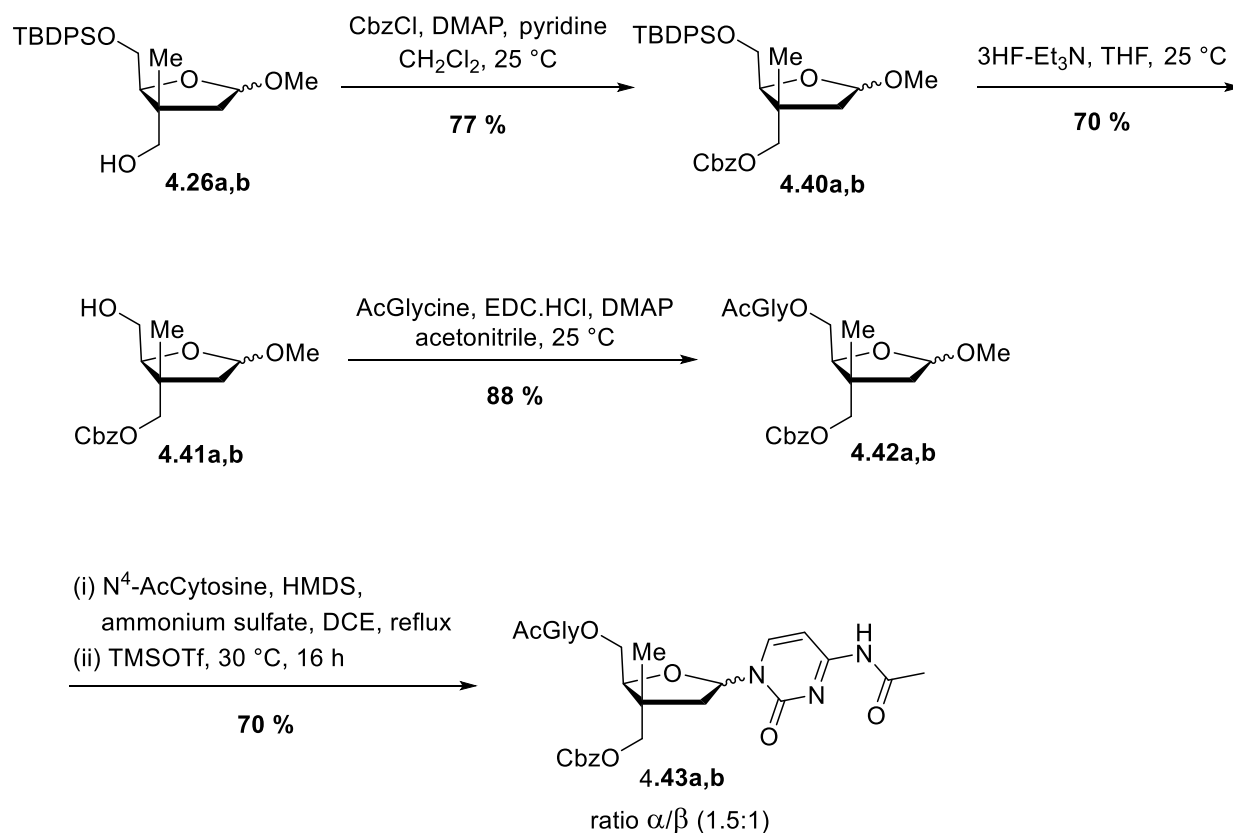


(-)-4-amino-1-((2*S*,4*R*,5*S*)-4,5-bis(hydroxymethyl)-4-methyltetrahydrofuran-2-yl)pyrimidin-2(1*H*)-one (**4.02**)

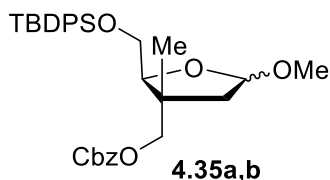


To a solution of α -nucleoside **4.25a** (40 mg, 0.08 mmol, 1.0 equiv.) in anhydrous THF (0.45 mL, 0.15 M) in a plastic vial at 0 °C, 3HF-Et₃N (0.05 mL, 4.0 equiv., ~70 % HF) was added. The mixture was stirred for 16 hours at room temperature. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by reverse phase flash chromatography on silica gel (0 to 10

% MeOH in H₂O) to provide deprotected nucleoside analogue **4.02** as a white foam (18 mg, 81 %): **R_f** = 0.12 (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10); [**α**]²⁵_D -63 (c 1.0, MeOH); **Formula**: C₁₁H₁₇N₃O₄; **MW**: 255.27 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3334, 3202, 2960, 2925, 2875, 1641, 1608, 1526, 1486, 1410, 1362, 1286 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 7.78 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.09 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 5.92 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 4.19 (dd, *J* = 6.3, 5.2 Hz, 1H), 3.69 (s, 1H), 3.68 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 3.47 (d, *J* = 3.1 Hz, 2H), 2.31 (dd, *J* = 13.4, 6.1, 1H), 1.97 (dd, *J* = 13.4, 7.1 Hz, 1H), 1.06 (s, 3H) ppm. *Labile protons were not observed*; **¹³C NMR** (126 MHz, CD₃OD) δ 167.7, 158.3, 141.8, 95.8, 87.7, 86.7, 67.8, 62.5, 47.6, 45.3, 17.5 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+H]⁺ calcd for C₁₁H₁₈N₃O₄: 256.1297; found 256.1279 (-1.78 ppm).

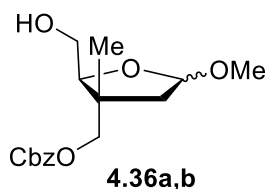


Benzyl-(((2*S*,3*R*)-2-(((tert-butyl)dimethylsilyloxy)methyl)-5-methoxy-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl) carbonate (4.35a,b)



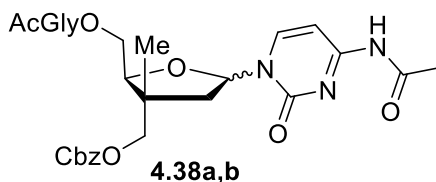
To a solution of C3'-alcohols **4.26a,b** (1.2 g, 2.9 mmol, 1.0 equiv.) in CH₂Cl₂ (15 mL, 0.20 M) at 0 °C, DMAP (1.4 g, 12 mmol, 4.0 equiv.) and CbzCl (1.2 mL, 8.7 mmol, 3.0 equiv) were added. The mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. The reaction mixture was then treated with a saturated aqueous solution of NaHCO₃, followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 20 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. The crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/Et₂O, 80:20) to provide C3'-protected methyl glycosides **4.35a,b** in a ratio of (1:1) as a colorless oil (1.23 g, 77 %): **R_f** 0.28 (Hexanes/EtOAc, 80:20); **Formula:** C₃₂H₄₀O₆Si; **MW:** 548.75 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 2954, 2931, 2858, 1748, 1471, 1428, 1395, 1252 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 7.69 – 7.67 (m, 8H), 7.43 – 7.34 (m, 22H), 5.17 (t, *J* = 7.8 Hz, 4H), 5.02 (dd, *J* = 5.7, 2.7 Hz, 1H, *minor*), 4.93 (dd, *J* = 5.9, 2.2 Hz, 1H, *major*), 4.22 (d, *J* = 10.4 Hz, 1H), 4.10 – 4.03 (m, 3H), 3.98 – 3.93 (m, 2H), 3.77 – 3.73 (m, 4H), 3.34 (s, 3H, *OMe minor*), 3.28 (s, 3H, *OMe major*), 2.16 (dd, *J* = 13.6, 5.9 Hz, 1H, *major*), 2.01 (dd, *J* = 13.6, 5.7 Hz, 1H, *minor*), 1.91 (dd, *J* = 13.6, 2.7 Hz, 1H, *minor*), 1.75 (dd, *J* = 13.5, 2.2 Hz, 1H, *major*), 1.20 (s, 3H, *Me major*), 1.06 (s, 3H, *Me minor*), 1.05 (s, 18H) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 155.4, 155.3, 135.8, 135.74, 135.73, 135.4, 135.33, 135.32, 133.6, 133.5, 133.4, 129.84, 129.81, 128.77, 128.73, 128.68, 128.67, 128.55, 128.53, 128.47, 127.8, 105.0, 104.3, 83.2, 81.8, 74.2, 74.1, 69.88, 69.86, 69.8, 64.2, 63.7, 55.4, 55.2, 44.4, 44.1, 43.9, 43.3, 26.9, 19.31, 19.28, 18.5, 18.2 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₃₂H₄₀O₆SiNa: 571.2492; found 571.2489 (–0.52 ppm).

Benzyl-(((2S,3R)-2-(hydroxymethyl)-5-methoxy-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl) carbonate (4.36a,b)



To a solution of C3'-protected methyl glycosides **4.35a,b** (1.2 g, 2.2 mmol, 1.0 equiv.) in anhydrous THF (13 mL, 0.15 M) in a plastic vial at 0 °C, 3HF-Et₃N (1.8 mL, 5.0 equiv., ~70 % HF) was added. The mixture was stirred for 16 hours at room temperature. The mixture was concentrated *in vacuo* and the crude product was purified by flash chromatography on silica gel (Hexanes/EtOAc, 30:70) to provide alcohols **4.36a,b** in a ratio of (1:1) as a white foam (485 mg, 70 %): **R_f** = 0.35 (Hexanes/EtOAc, 30:70); **Formula**: C₁₆H₂₂O₆; **MW**: 310.35 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 3450, 2954, 2858, 1742, 1455, 1397, 1382, 1244 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CD₃OD) δ 7.39 – 7.33 (m, 10H), 5.16 (d, *J* = 2.7 Hz, 4H), 5.03 (dd, *J* = 6.0, 3.3 Hz, 2H), 4.14 (dd, *J* = 35.6, 10.5 Hz, 2H), 3.98 – 3.91 (m, 4H), 3.73 – 3.61 (m, 4H), 3.42 (s, 3H, *OMe major*), 3.34 (s, 3H, *OMe minor*), 2.93 (dd, *J* = 8.8, 4.1 Hz, 1H, *minor*), 2.15 (dd, *J* = 14.1, 6.3 Hz, 1H, *major*), 1.93 – 1.80 (m, 4H), 1.22 (s, 3H, *major*), 1.05 (s, 3H, *minor*) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CD₃OD) δ 155.3, 155.2, 135.23, 135.16, 128.73, 128.71, 128.69, 128.52, 128.49, 105.4, 103.9, 84.3, 82.6, 74.09, 74.06, 69.9, 69.8, 63.4, 62.6, 55.9, 55.1, 44.7, 44.4, 43.6, 43.1, 18.7, 17.7 ppm; **HRMS** (ESI+) *m/z* [M+Na]⁺ calcd for C₁₆H₂₂O₆Na: 333.1314; found 333.1316 (+2.23 ppm).

((2S,3R)-5-(4-acetamido-2-oxypyrimidin-1(2H)-yl)-2-(((2,3-dioxobutyl)amino)oxy)methyl)-3-methyltetrahydrofuran-3-yl)methyl benzyl carbonate (4.38a,b)



To a solution of alcohol **4.36a,b** (430 mg, 1.39 mmol, 1.0 equiv.) in acetonitrile (4.2 mL, 0.33 M), N-acetylglycine (250 mg, 2.20 mmol, 1.5 equiv.), DMAP (85 mg, 0.70 mmol, 0.5 equiv.) and EDC.HCl (400 mg, 2.1 mmol, 1.5 equiv.) at 0 °C were added. The mixture was warmed to room temperature and stirred for 16 hours. The reaction mixture was then treated with a saturated aqueous solution of NH₄Cl, followed by separation of the organic phase. The aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (3 x 10 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated *in vacuo*. Filtration over a silica pad (Hexanes/EtOAc, 10:90) provided crude methyl glycosides **4.37a,b** which were used directly for the next step.

A solution of N⁴-acetylcytosine (47 mg, 0.31 mmol, 1.3 equiv.), (NH₄)₂SO₄ (0.10 equiv.) and HMDS (0.16 mL, 0.76 mmol, 3.0 equiv.) in 1,2-dichloroethane (1.8 mL, 0.13 M) was refluxed under an argon atmosphere for 2 hours. The mixture was cooled to room temperature for 30 minutes and the crude methyl glycoside **4.37a,b** (100 mg, 0.24 mmol, 1.0 equiv.) in DCE (1.8 mL) were added. After refluxing for 1 hour, the solution was cooled to room temperature and then to 0 °C. Trimethylsilyl triflate (0.11 mL, 0.61 mmol, 2.5 equiv.) in DCE (2.5 mL, 0.10 M) was added over a period of 5 minutes and the resulting solution was stirred for 16 hours at 30 °C. The reaction mixture was treated with a saturated solution of NaHCO₃ (15 mL), and the aqueous layer was extracted with CH₂Cl₂ (15 mL). The combined organic layers were washed with brine, dried over MgSO₄ and concentrate *in vacuo*. A (1.5:1 α/β -ratio) of the crude mixture was determined by ¹H NMR. Purification by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10), provided a mixture of nucleoside analogues **4.38a,b** as a white foam (90 mg, 70 %): **R_f** = 0.48 (CH₂Cl₂/MeOH, 90:10); **Formula:** C₂₅H₃₀N₄O₉; **MW:** 530.53 g/mol; **IR** (neat) ν_{\max} 1746, 1658, 1557, 1492, 1385, 1306 cm⁻¹; **¹H NMR** (500 MHz, CDCl₃) δ 8.27 (s, 2H, NH), 8.07 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, major), 7.89 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H, major), 7.44 – 7.36 (m, 12H), 6.08 (t, *J* = 6.5 Hz, 1H, major), 5.98 (s, 2H, NH), 5.91 (t, 6.2 Hz, 1H, minor), 5.17 (d, *J* = 12.8 Hz, 4H), 4.37 – 4.23 (m, 6H), 4.12 – 3.94 (m, 8H), 2.82 (dd, *J* = 13.9, 7.5 Hz, 1H), 2.66 (dd, *J* = 14.2, 6.7 Hz, 1H), 2.23 (s, 6H), 2.05 (s, 6H), 2.00 (dd, *J* = 13.9, 6.7 Hz, 1H), 1.90 (dd, *J* = 15.3, 6.3 Hz, 1H), 1.16 (s, 3H, Me major), 1.06 (s, 3H, Me minor) ppm; **¹³C NMR** (126 MHz, CDCl₃) δ 170.4, 169.9, 162.24, 162.19, 155.0, 154.9, 143.7, 143.4, 134.95, 134.92, 128.95, 128.92, 128.85, 128.7, 87.6, 87.4, 82.3, 82.0, 72.5, 71.4, 70.3, 64.6, 64.5, 45.0, 44.5, 44.0, 43.7,

41.60, 41.56, 25.19, 25.18, 23.09, 23.07, 18.5, 17.7 ppm; **HRMS** (ESI+) m/z [M+Na]⁺ calcd for C₂₅H₃₀N₄O₉Na : 553.1910; found 553.1913 (+1.50 ppm).